

ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОЛОГИИ ДЕНДРИТОВ МАУТНЕРОВСКИХ НЕЙРОНОВ ЗОЛОТОЙ РЫБКИ В УСЛОВИЯХ МОНОКУЛЯРНОЙ ДЕПРИВАЦИИ И СЕНСОРНОЙ СТИМУЛЯЦИИ

© 2019 г. Г.З. Михайлова, Р.Ш. Штанчаев, Е.Н. Безгина, Н.Н. Каширская*,
Н.А. Пенькова, Н.Р. Тирас

*Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
142290, Пушкино Московской области, ул. Институтская, 3*

**Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН,
142290, Пушкино Московской области, ул. Институтская, 2*

E-mail: gulnaramari@yandex.ru

Поступила в редакцию 21.11.18 г.

После доработки 21.11.18 г.

Принята к публикации 13.12.18 г.

Методами световой и электронной микроскопии исследованы эффекты сенсорной стимуляции на модели парных маутнеровских нейронов монокулярно-депривированных золотых рыбок. Определение объемов сомы и дендритов для правого и левого маутнеровского нейрона проводили, используя метод трехмерной реконструкции по серийным полутонким срезам. Данные свидетельствуют о том, что длительная стимуляция части рыбок вызывает уменьшение объемов латеральных дендритов нейронов, контралатеральных по отношению к удаленному глазу. Как следствие, наблюдаемый в контроле морфологический гомеостаз дендритов маутнеровских нейронов нарушается после воздействия стимуляции на данную группу рыбок. Основным механизмом такого эффекта стимуляции, согласно данным ультраструктурного анализа, является уплотнение цитоскелета латерального дендрита нейрона и запустевание везикулярного аппарата афферентных синапсов. Напротив, стимуляция остальных рыбок индуцирует резистентность контралатерального маутнеровского нейрона к длительной стимуляции, гипертрофию его латерального и укорочение вентрального дендрита. Результаты позволяют предположить, что гомеостаз дендритов маутнеровских нейронов существенно зависит от состояния зрительных входов, нагрузка на которые увеличилась вследствие двойного воздействия.

Ключевые слова: золотая рыбка, монокулярная депривация, дендриты, сенсорная стимуляция, маутнеровские нейроны, 3D-реконструкция, гистология, ультраструктура.

DOI: 10.1134/S0006302919010101

Известно, что гомеостатическая пластичность нейронов необходима для защиты нейрональной сети от излишнего усиления активности или ее ослабления в условиях сенсорной, в частности, зрительной депривации [1]. Было показано, что такая пластичность проявляется как на синаптическом [2,3], так и на физиологическом уровнях [4]. Установлено, что усиление пластичности в условиях зрительной депривации происходит в тех нейрональных сетях, которые активируются при двойном воздействии, а именно при сочетании зрительной нагрузки с локомоторной активностью [5]. При

этом неясно, может ли данное воздействие влиять на структуру дендритов постсинаптического нейрона. Литературные данные, имеющиеся на этот счет, зачастую противоречивы [6–8]. Выявление структурных изменений дендритов, как правило, затруднено вследствие межполушарной асимметрии мозга позвоночных и сложности его организации. В этом отношении перспективным является проведение исследований на ретикулоспинальных нейронах костистых рыб [9], в частности маутнеровских нейронах (МН) золотой рыбки, обладающих строго закономерной морфофункциональной асимметрией, данные о которой базируются на известной изменчивости структуры под влиянием сенсорных стимуляций [10,11]. Было установлено, что функциональной активностью МН управляют

Сокращения: МН – маутнеровские нейроны, КМА – коэффициент моторной асимметрии рыбок, КСА – коэффициент структурной асимметрии.

два структурных механизма, один из которых основан на положительной регуляции с помощью изменения размеров сомы и латерального дендрита, а второй – на негативной регуляции через вариации размера вентрального дендрита, приемника зрительных стимулов [12,13]. Оба альтернативных механизма, судя по обнаружению их определенных структурных признаков в маунтерновских нейронах в одинаковых экспериментальных условиях, могут проявляться как компенсаторная реакция на хирургическое повреждение зрительного сенсорного входа, последовавшая за энуклеацией глаза [14]. Мы предположили, что их раздельная или совместная реализация связана с различиями в направлении сенсорных входов, оставшихся неповрежденными, в частности, возросшей нагрузкой на другой глаз [15]. Проверить это предположение можно, экспериментально вызывая дополнительное напряжение неповрежденного (интактного) входа с помощью естественной стимуляции, например, применив оптокинетику стимуляцию после энуклеации глаза. Это и явилось задачей настоящей работы.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на 28 мальках золотых рыбок *Carassius auratus* породы Оранда шестимесячного возраста длиной около 3 см и массой около 2 г. Учитывая, что левый нейрон инициирует поворот рыбки вправо, а правый нейрон – влево, на основании поведенческих тестов оценивали различия в функциональной активности между левым и правым нейронами. Для этого вычисляли коэффициент моторной асимметрии рыбок (КМА) как отношение числа поворотов рыбок в предпочитаемую сторону к сумме поворотов в обе стороны. По значению КМА отбирали рыбок-амбидекстров, не проявлявших предпочтения стороне поворота (КМА $\approx 0,50$), правой и левой с относительно постоянной степенью латерализации (КМА $\geq 0,55$). У рыбок, предпочитающих поворачиваться вправо, проводили хирургическое удаление правого глазного яблока и, наоборот, у рыбок-левой удаляли левое глазное яблоко. Через один–два месяца после операции рыбок подвергали оптокинетику стимуляции с помощью оптомоторного барабана, вращающегося со скоростью 30 об/мин, с наклеенными на него контрастными черно-белыми полосками (пространственная частота подачи сигнала 0,04 цикл/град). Оптомоторный барабан вращали в темпоро-назальном направлении (для рыбок-правой – по часовой стрелке). Для морфологического исследования МН мозг рыбок

после воздействия на зрительный аппарат фиксировали в момент наибольшего проявления функционального эффекта – через месяц после энуклеации глаза и сразу после зрительной стимуляции. Участок продолговатого мозга, содержащий МН, фиксировали по протоколу, используемому в электронной микроскопии [15]. Гистологические фронтальные срезы толщиной 3 мкм готовили на пирамитоме (ЛКВ, Швеция). Срезы, содержащие МН, фотографировали последовательно при увеличении 250 \times с помощью микроскопа NU-2E (Carl Zeiss, ГДР) на цифровую камеру CoolPix E995 (Nikon, Япония). Каждый срез фотографировали по частям, затем части среза объединяли в панорамы, контрастировали и повышали резкость снимка, используя программы Adobe PhotoShop CS 5.1 и PTGui 9.1. Изображения срезов выравнивали относительно друг друга полуавтоматически в программе IGL Align SEM Align (версия 1.20b). Трехмерные объекты получали с помощью программы IGL Trace 1.26b. При калибровке учитывали коэффициент сжатия мозга во время его фиксации и проводки. На каждом срезе вручную обводили контуры сечений МН. Контуры стволовых участков дендритов прорисовывали до мест их бифуркации. Границы контуров дендритных стволов с ветвями устанавливали по линии, перпендикулярной оси дендрита и проходящей через точку бифуркации. Получали данные об объемах индивидуальных частей МН (сома, латеральный и вентральный дендриты) в программе 3DView 3.5. Асимметрию МН и их частей у каждой рыбки характеризовали, рассчитывая коэффициент структурной асимметрии (КСА) как отношение объема контралатеральной предпочитаемой стороне поворотов нейрона или его части к сумме объемов обоих МН или соответствующих частей. Вычисляли коэффициенты структурной асимметрии для нейрона в целом (КСА_{МН}), латерального (КСА_{ЛД}) и вентрального дендритов (КСА_{ВД}), а также для суммы обоих дендритов (КСА_{ЛД+ВД}). Затем прицельно изучали ультраструктуру латеральных дендритов правого и левого реконструированных МН интактных и подопытных рыбок с выраженной атрофией дендритов. Для этого содержащие исследуемые части МН гистологические срезы, переклеенные со стекол на отдельные эпоновые блоки, резали ультратонко на ультрамикротоме EM UC6 (Leica, ФРГ) и исследовали качественно в электронном микроскопе BS-500 (Tesla, Чехословакия) при увеличении 10000 \times . Съемку вели на фотопленку, негативы обрабатывали и анализировали после их оцифровки с помощью сканера Epson 3200 Photo (Seiko, Япония). Ко-

Влияние зрительной депривации и зрительной стимуляции на коэффициент моторной асимметрии и объемные характеристики маутнеровских нейронов золотой рыбки

Коэффициент моторной асимметрии					
Экспериментальное воздействие	Контроль, $n = 6$	Группа 1 (зрительная депривация), $n = 5$	Группа 1 (зрительная депривация и стимуляция), $n = 5$	Группа 2 (зрительная депривация), $n = 5$	Группа 2 (зрительная депривация и стимуляция), $n = 5$
До депривации	0,55 ± 0,04	0,52 ± 0,04	0,52 ± 0,04	0,54 ± 0,01	0,53 ± 0,01
После депривации	–	0,74 ± 0,03*	0,69 ± 0,03*	0,63 ± 0,04*	0,6 ± 0,03*
После депривации и стимуляции	–	–	0,93 ± 0,04**	–	0,68 ± 0,02
Объемные характеристики маутнеровских нейронов					
Соба					
К, ×10 ³ мкм ³	150 ± 7,2	182 ± 19#	114 ± 12##	189 ± 18#	156 ± 44
И, ×10 ³ мкм ³	103 ± 11	148 ± 21	100 ± 5	143 ± 22	139 ± 26
КСА	0,60 ± 0,02	0,55 ± 0,02	0,53 ± 0,02	0,58 ± 0,02	0,48 ± 0,02##
Латеральный дендрит					
К, ×10 ³ мкм ³	56 ± 2,8	80 ± 12#	44 ± 3##	122 ± 9,9#	79 ± 4,7##
И, ×10 ³ мкм ³	51 ± 2,2	73 ± 12	63 ± 8	89 ± 7,5#	67 ± 6,2
КСА	0,53 ± 0,01	0,51 ± 0,02	0,41 ± 0,02##	0,59 ± 0,01#	0,56 ± 0,04
Вентральный дендрит					
К, ×10 ³ мкм ³	47 ± 5	41 ± 1#	37 ± 7	61 ± 7,8	36 ± 8##
И, ×10 ³ мкм ³	43 ± 4	85 ± 4,7#	35 ± 7##	75 ± 12,5#	44 ± 6##
КСА	0,52 ± 0,01	0,37 ± 0,02#	0,53 ± 0,02	0,44 ± 0,03	0,45 ± 0,04
Латеральный и вентральный дендриты					
К, ×10 ³ мкм ³	100 ± 6,1	131 ± 8,7	86 ± 9##	183 ± 16#	112 ± 8##
И, ×10 ³ мкм ³	94 ± 5,6	157 ± 18#	106 ± 18	164 ± 19	111 ± 7##
КСА	0,52 ± 0,01	0,43 ± 0,01#	0,43 ± 0,01#	0,54 ± 0,02	0,50 ± 0,02

Примечание. К, И – нейроны, контралатеральный и ипсилатеральный по отношению к удаленному глазу; * – значимое отличие параметра КМА после депривации от КМА в контроле $p < 0,05$; ** – отличия КМА после стимуляции от КМА до стимуляции статистически значимы, $p < 0,05$; # – значимое отличие показателей от контроля, $p < 0,05$. ## – значимое отличие показателей после стимуляции от показателей до стимуляции, $p < 0,05$.

личественную обработку результатов проводили в пакете статистического анализа программы Excel (в составе Microsoft Office 2003). Значимость различий до и после экспериментальных воздействий проверяли с помощью t -критерия Стьюдента. Количественные данные представлены значениями среднего арифметического ± ошибка среднего (при уровне значимости доверительного интервала 0,05).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Влияние сенсорной стимуляции на функциональную активность МН, проявляющуюся в моторном поведении рыбок. Результаты оценки влияния сенсорной стимуляции на моторное поведение рыбок представлены в таблице. По итогам тестирования моторного поведения рыбок разделили на две группы. Анализ мотор-

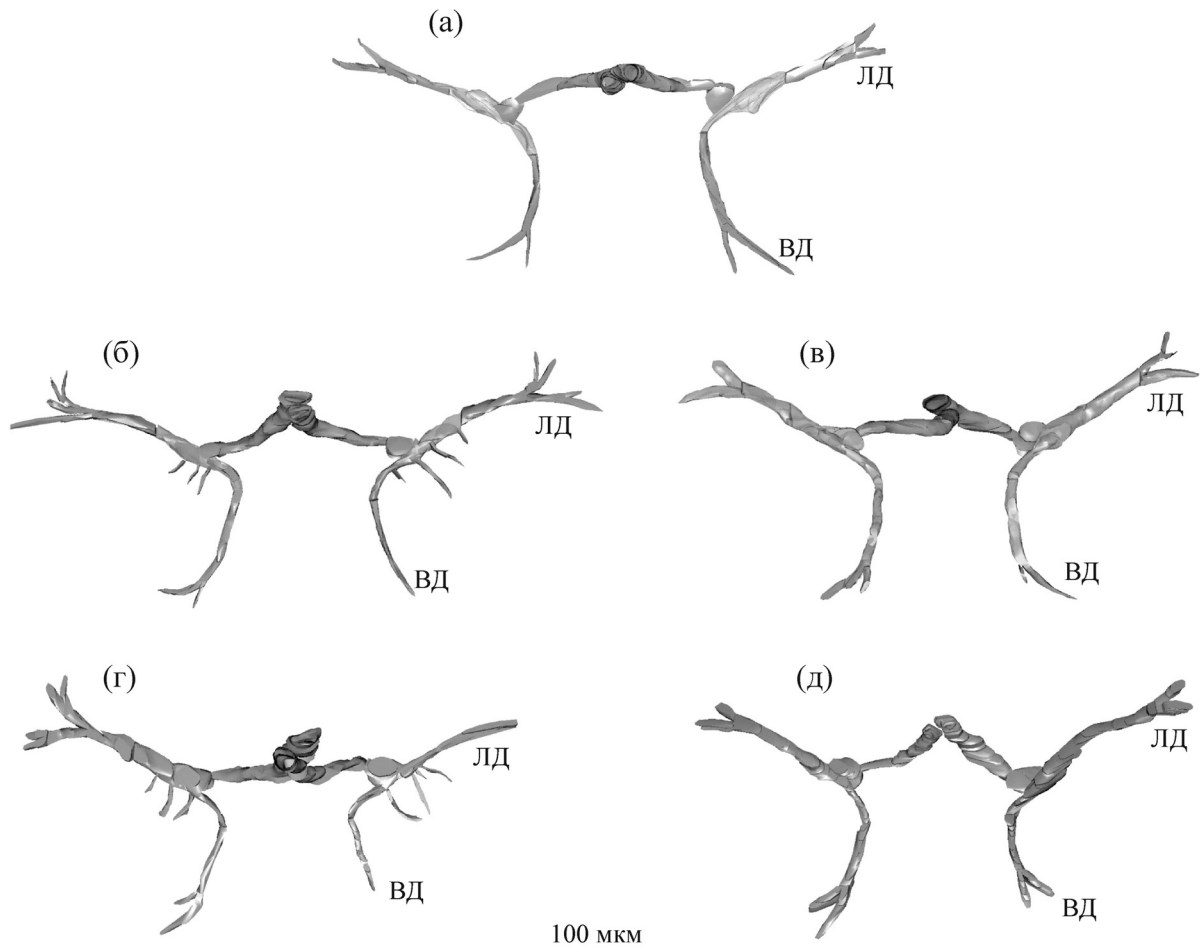


Рис. 1. Изображение реконструированных маунтеровских нейронов золотых рыбок: (а) – интактные нейроны, (б) – первая группа после депривации, (в) – первая группа после депривации и зрительной стимуляции, (г) – вторая группа после депривации, (д) – вторая группа после депривации и зрительной стимуляции. ЛД и ВД – латеральный и вентральный дендриты соответственно.

ного поведения показал, что степень моторной латерализации первой группы рыбок после стимуляции значительно возростала ($n = 5$, $p = 0,01$) по сравнению с интактными рыбками. Во второй группе оказались рыбки, у которых индекс моторной латерализации достоверно не изменялся как после депривации ($n = 5$, $p \geq 0,05$), так и в условиях сенсорной стимуляции ($n = 5$, $p = 0,8$).

Влияние сенсорной стимуляции на морфометрические характеристики МН и его дендритов. Типичные примеры изображений реконструированных МН рыбок, подвергнутых монокулярной депривации и последующей сенсорной стимуляции, представлены на рис. 1. Анализ реконструированных МН выявил различия в пропорциях между интегральными размерами правого и левого нейронов и между их индивидуальными частями у интактных и подопытных рыбок. Так, видно, что контрольная ин-

тактная рыбка-левша в соответствии с ранее установленными закономерностями имеет $KMA = 0,55$ и идентичную структуру правого и левого МН, размеры которых (суммарный объем) количественно тоже совпадают ($KCA_{MN} = 0,55$). Близки по размерам также и их отдельные части, варьирующие в небольших пределах, характерных для интактных особей (рис. 1а). Обращает внимание, что сома и оба дендрита правого МН в разной степени, но обязательно крупнее, чем у левого МН.

В таблице представлены количественные данные объемов индивидуальных частей МН депривированных рыбок. На рис. 1б представлено объемное изображение МН рыбки с удаленным левым глазом. Ее KMA изменяется от 0,51 до 0,67. Это происходит в точном соответствии с изменением пропорции между размерами вентральных дендритов за счет трехкратного уменьшения (с 92 до $31 \cdot 10^3$) $\mu\text{м}^3$

объема дендрита правого нейрона, негативно управляющего интегральной активностью своего МН (рис. 1б). В результате этого и произошел сдвиг моторной асимметрии рыбки до $KMA = 0,67$. Коэффициент структурной асимметрии вентральных дендритов ($KCA_{ВД}$) тоже изменился с 0,56 у интактных до 0,33 у оперированных рыбок. Характерным признаком реципрокного влияния размера вентрального дендрита на эффективность МН выступает не только его интегральный объем, но также заметные качественные признаки (истончение и полукратное укорочение его длины) прямого следствия длительного отсутствия притока зрительной афферентной сигнализации из-за энуклеации противоположного глаза. Отметим также заметное компенсаторное увеличение размеров (до $(80-85) \cdot 10^3$ мкм³) как латеральных дендритов контралатеральных МН, так и вентральных дендритов ипсилатеральных МН по сравнению с аналогичными показателями для интактных МН (таблица). Оптикинети́ческая стимуляция данной группы рыбок оказала заметный эффект именно на данные дендриты. Объемы обоих дендритов падают до $(33-44) \cdot 10^3$ мкм³. Как следствие, показатель $KCA_{ЛД + ВД}$ снижается до 0,43, что может свидетельствовать о нарушении морфологического гомеостаза дендритов. Как следует из рис. 1в, латеральный дендрит правого (контралатерального) МН рыбки-левши уменьшился в размере до $46 \cdot 10^3$ мкм³. Это сопровождается заметным сдвигом $KCA_{ЛД}$ с 0,53 до 0,41. Несмотря на то, что объем вентрального дендрита левого (ипсилатерального) МН снизился, тем не менее, дендрит остался крупнее и длиннее, чем вентральный дендрит парного ему нейрона (рис. 1в). Еще одним структурным признаком депривации является образование медиальных дендритов, которые отрастают из соматических частей обоих МН и не исчезают после стимуляции (рис. 1б, 1в).

Удаление глаза у рыбок второй группы само по себе не вызывает уменьшения объема вентрального дендрита ипсилатерального нейрона. Напротив, депривация этой группы рыбок индуцирует гипертрофию дендритов и сомы обоих нейронов (таблица). Заметное сходство KMA рыбок этой группы до воздействий и суммарного KCA сомы и обоих дендритов после всех воздействий говорит о сохранении врожденной размерной пропорции между обоими МН, свойственной конкретной особи. Морфологический гомеостаз дендритов стабилен, судя по значению $KCA_{ЛД + ВД}$ равному 0,54. На рис. 1г представлено объемное изображение МН рыбки после удаления правого глаза. Значение KCA для суммы дендритов равно 0,53, что свиде-

тельствует о сохранении морфологического гомеостаза дендритов. Степень моторной латерализации данной рыбки равна 0,6, что соответствует значению $KCA_{ЛД}$ (0,58) для МН данной рыбки.

Оптикинети́ческая стимуляция второй группы рыбок индуцировала снижение размера вентральных дендритов путем укорочения их базальных сегментов и стабилизацию размеров сомы и латеральных дендритов на высоком уровне (таблица). На рис. 1д представлено изображение реконструированных МН рыбки-левши с укороченными вентральными дендритами, при этом заметно большее укорочение происходит у дендрита правого МН. Объемы сомы и латерального дендрита правого (контралатерального) нейрона превышают таковые для ипсилатерального МН, что находит свое отражение в $KCA_{ЛД} = 0,56$.

В целом контралатеральные нейроны рыбок первой группы после стимуляции перестают быть доминантными, судя по показателям структурной асимметрии сомы и дендритов (таблица). Что касается нейронов рыбок второй группы, структурно-функциональные данные свидетельствуют в пользу сохранения их приоритета. Воздействие стимуляции на структуру вентральных дендритов было обнаружено в обеих группах, тогда как структура латерального дендрита контралатерального МН существенно изменялась только в первой группе. Поэтому нами была исследована ультраструктура именно этого компартмента нейрона.

Влияние сенсорной стимуляции на ультраструктуру латерального дендрита маутнеровского нейрона. Ультраструктура латеральных дендритов МН интактной рыбки-правши представлена на рис. 2а, 2б. Видно, что афферентные синаптические окончания статоакустического нерва на латеральных дендритах контралатерального левого (рис. 2а) и ипсилатерального правого (рис. 2б) нейронов имеют интактный вид и представлены главным образом возбуждающими химическими и смешанными синапсами. Цитоскелет латеральных дендритов обоих МН умеренно рыхлый, эндоплазматический ретикулум слабо выражен в виде редких цистерн различного размера. Не выявлено различий и в плотности цитоскелета латеральных дендритов левых и правых нейронов.

Ультраструктура латеральных дендритов МН рыбки-правши после энуклеации представлена на рис. 2в-д. Анализ показал, что на латеральном дендрите левого МН, ставшего еще более активным после депривации, появляются многочисленные профили аксонных окончаний, в разной степени запустевших и

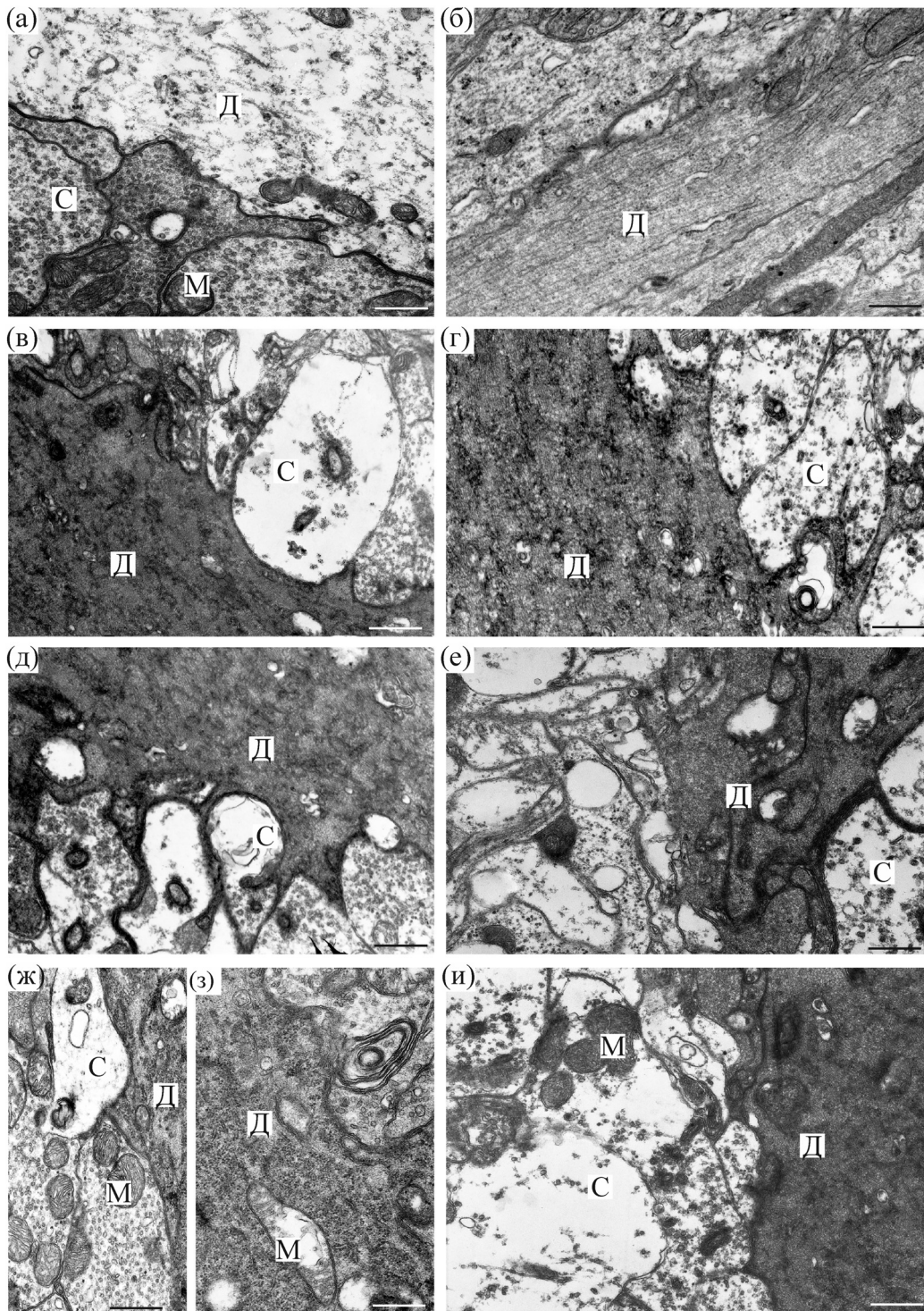


Рис. 2. Ультраструктура латеральных дендритов маутнеровских нейронов: (а) и (б) – дендриты интактных рыбок; (в), (г) и (д) – дендриты контралатерального и ипсилатерального нейронов, соответственно, после депривации; (е) и (и) – дендриты ипсилатерального нейрона рыбок первой группы после депривации и зрительной стимуляции; (ж) и (з) – дендриты контралатерального нейрона рыбок первой группы после депривации и зрительной стимуляции. Обозначения: Д – дендрит, С – синапс, М – митохондрии. Шкала 1 мкм.

частично потерявших специализированные синаптические контакты (рис. 2в, 2д). Митохондрии набухают, теряют часть крист, их матрикс

просветляется, в нем появляются темные включения. Синапсы на латеральном дендрите ипсилатерального МН заполнены многочислен-

ными синаптическими везикулами, но выглядят частично запустевшими, везикулы в них собираются в цепочки, направленные из глубины бутонов к активным зонам, возле которых они группируются (рис. 2г). В то же время цитоскелет в латеральном дендрите контралатерального нейрона плотнее, чем таковой нейрона-напарника (рис. 2в).

Ультраструктура латеральных дендритов МН рыбки-левши из первой группы рыбок, подвергнутых энуклеации и стимуляции, показана на рис. 2е–и. Видно, что структура дендрита левого нейрона, ставшего функционально неактивным после депривации и стимуляции, меняется в значительной степени. Цитоскелет латерального дендрита левого МН заметно уплотняется (рис. 2е, 2и). Как в цитоплазме, так и в синаптических окончаниях обнаруживаются набухшие митохондрии. В дендроплазме под синапсами появляются многочисленные миелिनные фигуры. Наблюдаются признаки запускования и деструкции синапсов, не прослеживается контур плазмалеммы. В то же время часть синаптических бутонов на латеральном дендрите контралатерального нейрона сохраняет свой интактный вид, хотя и теряет часть контактов, а в других синапсах значительно снижается количество везикул (рис. 2ж). Митохондрии набухают и повреждаются (рис. 2з).

ОБСУЖДЕНИЕ

Проблема регуляции функции нейронов с помощью структурных сдвигов является центральной в нейробиологии. К ней относятся неразгаданные пока структурные механизмы обучения и памяти, которые должны представлять собой стойкие изменения морфологии, приобретенные под действием специфической активности афферентных входов, лежащие в основе изменившейся функции нейронов [8,16]. В этом же ряду находятся структурные механизмы создания и поддержания межполушарной функциональной асимметрии, в частности, ответственной за латерализацию поведения, спонтанный выбор стороны поворота при движении [17]. В этом отношении морфофункциональная асимметрия МН не менее значимое для рыбки явление, чем для человека праворукость и леворукость. МН золотой рыбки помогают более четко выявить механизмы, лежащие в основе такой латерализации поведения, поскольку эту пару нейронов считают ответственной за совершение рыбками поворотов вправо или влево [18,19]. Ранее были выявлены тонкие механизмы прямой, положительной регуляции активности одного из пары МН с

помощью изменения размеров сомы и латерального дендрита и реципрокной, отрицательной ее регуляции с помощью изменчивости размеров вентрального дендрита [12]. Этому способствовали данные о стойкой изменчивости моторной асимметрии рыбки под действием энуклеации глаза всегда в «слепую» сторону [13], рассматриваемую нами как своего рода модель экспериментально обусловленного повышения функциональной активности индивидуального нейрона. Оставалось неизвестным, какие механизмы управляют этим однозначным функциональным сдвигом. В настоящей работе показано, что оба альтернативных механизма, регулирующих активность МН, участвуют в этом процессе, и существенное значение принадлежит зрительному входу, остающемуся у рыбки функционирующим. На основании полученных нами данных о специфичности структурных признаков МН можно достаточно четко судить о состоянии интактных МН и о характере гомеостатических изменений их структуры после двойного воздействия (депривация и стимуляция). Обнаружено, что как удаление глаза, так и зрительная стимуляция удаленного глаза, находящегося на другой стороне тела, после операции приводят к заметному уменьшению размеров вентральных дендритов МН, расположенных контралатерально по отношению к этим глазам. Существенно, что оба эти структурных изменения оказывают одинаковый эффект на поведение, но противоположного знака, каждый дендрит усиливает функциональную активность только «своего» нейрона. Этот реципрокный механизм может сочетаться с механизмом прямой регуляции функциональной активности МН со стороны вестибулярного и слухового аппарата, а также боковой линии. Эти органы чувств имеют свое представительство на соме и латеральном дендрите и способны коррелятивно влиять на морфологию этих частей нейрона и, соответственно, на интегральную функциональную активность МН, изменять ее. В настоящей работе мы продемонстрировали, что структура дендритов в условиях депривации адекватно реагирует на изменение притока зрительной информации только в случае, если удален доминантный глаз, а приток информации осуществляется через субдоминантный глаз и, как следствие, он более слабый. Наши данные согласуются с результатами, полученными в работе [20], свидетельствующими о том, что слабый ответ постсинаптического нейрона в ответ на зрительную стимуляцию приводит к укорочению базальных сегментов дендритов этого нейрона. Напротив, рыбки с удаленным субдоминантным глазом

сильнее реагировали как на монокулярную депривацию, так и на сенсорную стимуляцию: степень латерализации моторного поведения таких рыбок достоверно увеличивалась. По всей видимости, основную регуляторную роль в данном случае берет на себя октаво-латеральный вход, приходящий на сому и латеральный дендрит.

Ультроструктурные данные, полученные в настоящей работе, позволяют также утверждать, что маутнеровские нейроны энуклеированных золотых рыбок отражают в своей структуре нарушения реципрокного торможения. Рыбки первой группы не в состоянии игнорировать приток информации от оставшегося интактным доминантного глаза, что отражается на структуре цитоскелета МН, расположенного ипсилатерально по отношению к удаленному глазу. Мы полагаем, что изменения размеров маутнеровских нейронов, как и любой живой клетки, обусловлены реструктуризацией активного компонента цитоскелета, который является общим целостным органоидом для каждого нейрона [18,21], и находятся под контролем гомеостатических факторов, управляющих их функциональным состоянием [22]. Наши и литературные данные свидетельствуют, что локальная автономная изменчивость структуры разных дендритов и сомы связана с локальным изменением цитоскелета отдельно в каждом из компартментов нейрона [14,23]. Возможно, она также зависит от нейротрансмиттерных влияний, а ее неравномерность и степень выраженности может быть обусловлена различием нейротрансмиттеров, действующих на разные участки МН. Действительно, известно, что, в частности, дофамин и глутамат преобладают на соме и латеральном дендрите, тогда как на вентральном дендрите главенствует серотонин [24]. Каким образом серотонин влияет на морфологию МН и способен ли он, так же как дофамин и глутамат [25,26], вызывать перестройки цитоскелета в регулируемом им дендрите или взаимодействовать с выделенным актином *in vitro*, покажут последующие эксперименты на ультроструктурном уровне.

Идея данного исследования принадлежит д.б.н. Д.А. Мошкову. Авторы посвящают статью его светлой памяти.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 16-04-01759а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. M. E. Lambo and G. G. Turrigiano, *J. Neurosci.* **33** (20), 8810 (2013).
2. T. Keck, G. B. Keller, R. I. Jacobsen, et al., *Neuron* **80**, 327 (2013).
3. A. Goel, L. W. Xu, K. P. Snyder, et al., *PLoS One* **6** (3), 1 (2011).
4. M. P. Stryker, *Cold Spring Harb. Symp. Quant Biol.* **79**, 1 (2014).
5. M. Kaneko and M. P. Stryker, *Elife* **3**, e02798 (2014).
6. M. Barth, H. V. B. Hirsch, I. A. Meinertzhagen, and M. Heisenberg, *J. Neurosci.* **17** (4), 1493 (1997).
7. J. L. Chen, W. C. Lin, J. W. Cha, et al., *Nat. Neurosci.* **14** (5), 587 (2011).
8. M. Tripodi, J. F. Evers, A. Mauss, et al., *PLoS Biol.* **6** (10), 2172 (2008).
9. E. Gahtan, P. Tanger, and H. Baier, *J. Neurosci.* **25** (40), 9294 (2005).
10. D. A. Moshkov, G. Z. Mikhailova, E. E. Grigorieva, and R. S. Shtanchaev, *J. Integr. Neurosci.* **8** (4), 441 (2009).
11. П. Ш. Штанчаев, Г. З. Михайлова, Н. Ю. Дектярева и др., *Морфология* **132** (6), 29 (2007).
12. Е. Е. Григорьева, П. Ш. Штанчаев, Г. З. Михайлова и др., *Морфология* **138** (6), 10 (2010).
13. Е. Е. Григорьева, П. Ш. Штанчаев, Г. З. Михайлова и др., *Нейрофизиология* **42** (3), 225 (2010).
14. И. Б. Михеева, Н. Ю. Цаплина, Е. Е. Григорьева и др., *Морфология* **139** (3), 30 (2011).
15. П. Ш. Штанчаев, Г. З. Михайлова, Н. Ю. Дектярева и др., *Нейрофизиология* **39** (2), 133 (2007).
16. K. L. Elliott, D. W. Houston, R. De Cook, and B. Fritsch, *Dev. Neurobiol.* **75**, 1339 (2015).
17. L. J. Rogers, *Symmetry* **7** (4), 2181 (2015).
18. D. A. Moshkov, R. S. Shtanchaev, I. B. Mikheeva, et al., *J. Integr. Neurosci.* **12** (1), 17 (2013).
19. A. M. B. Lacoste, D. Schoppik, D. N. Robson, et al., *Curr. Biol.* **25** (11), 1526 (2015).
20. K. Haas, J. Li, and H. T. Cline, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **103** (32), 12127 (2006).
21. T. T. Quach, N. Auvergnon, J. K. Lerch, et al., *J. Neurol. Disord.* **4** (1), 257 (2016).
22. A. V. Samsonovich and G. A. Ascoli, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **103** (5), 1569 (2006).
23. Y. Wang and E. W. Rubel, *Neuroscience* **154** (1), 381 (2008).
24. K. W. Whitaker, H. Neumeister, L. S. Huffman, et al., *J. Neurophysiol.* **106**, 127 (2011).
25. Л. Л. Павлик, Е. Н. Безгина, Н. Р. Тирас и др. *Морфология* **125** (2), 26 (2004).
26. Е. Н. Безгина, Л. Л. Павлик, Г. З. Михайлова и др., *Нейрофизиология* **38** (4), 320 (2006).

Changes in Dendrite Morphology of Mauthner Cells in Goldfish during the Periods of Monocular Deprivation and Sensory Stimulation

G.Z. Mikhailova*, R.Sh. Shtanchaev*, E.N. Bezgina*, N.N. Kashirskaya**,
N.A. Pen'kova*, and N.R. Tiras*

**Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences,
ul. Institutskaya 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

***Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science, Russian Academy of Sciences,
ul. Institutskaya 2, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

The effects of sensory stimulation on the model of paired Mauthner neurons of monocularly deprived goldfish have been studied by light- and electron microscopical techniques. Three-dimensional reconstruction was performed using serial semi-thin sections in order to determine the volumes of soma and dendrites for the right and left Mauthner neurons. Evidence suggests that long-term stimulation of some fish causes a decrease in the volume of lateral dendrites of neurons contralateral with respect to the side of the enucleated eye. As a result, the morphological homeostasis in the dendrites of Mauthner neurons observed in the control is disturbed after the stimulation of this group of fish. The main effect of this stimulation, according to ultrastructural analysis, is induration of dendrite cytoskeleton and a reduction in the number of synaptic vesicles in the region of afferent synapses. In contrast, stimulation of the remaining fish induces the resistance of the contralateral Mauthner neuron to prolonged stimulation, hypertrophy of its lateral dendrite and shortening of the ventral dendrite. Our results suggest that the activity of the Mauthner neurons and the morphological homeostasis in its dendrites highly depend on the state of the visual inputs, the load on which has increased because of the use of two different techniques.

Keywords: goldfish, monocular deprivation, dendrites, sensory stimulation, Mauthner neurons, 3D-reconstruction, histology, ultrastructure