

Metody anatomiczne

Mirosław J. Mossakowski*

Badanie morfologiczne synaps

Wstęp

Morfologiczny substrat procesu przewodzenia impulsów w ośrodkowym układzie nerwowym był od dawna przedmiotem zarówno różnorodnych spekulacji i hipotez, jak też wielokierunkowych badań naukowych. Pierwotna koncepcja utrzymująca się do końca ubiegłego stulecia, a oparta już na podstawowych wiadomościach z zakresu anatomii mikroskopowej układu nerwowego zakładała, że komórki nerwowe wraz ze swoimi wypustkami stanowią nieprzerwaną sieć syncycjalną zapewniającą swobodne, wielokierunkowe rozchodzenie się impulsów. Na wyjaśnienie właściwego mechanizmu przewodzenia i przekazywania impulsów w układzie nerwowym złożyły się prace dwóch wybitnych badaczy działających na przełomie XIX i XX wieku. Jednym z nich był angielski neurofizjolog Sherrington, drugim hiszpański neuroanatom Cajal. Sherrington na podstawie doświadczeń fizjologicznych wykazał, że przewodzenie impulsu charakteryzuje się opóźnieniem sugerującym przerwanie jego drogi, a Cajal na podstawie wprowadzonych przez siebie technik histologicznych stwierdził, że neuron stanowi samodzielną jednostkę strukturalną, kontaktującą się z innymi komórkami nerwowymi za pośrednictwem zakończeń swojej wypustki osiowej. Te spostrzeżenia legły u podstaw współczesnej koncepcji synaps.

Podstawową jednostką czynnościową układu nerwowego jest neuron składający się z centralnej części okołojądrowej – perikarionu (zwanego zwykle skrótowo, acz nieprawidłowo, komórką nerwową)

* Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, 00-784 Warszawa, ul. Dworkowa 3.

oraz jej wypustek. Komórki nerwowe wyposażone są w dwa typy wypustek – liczne zazwyczaj wypustki protoplazmatyczne, zwane dendrytami oraz pojedynczą wypustkę osiową zwaną aksonem. Przebieg pobudzenia w komórce nerwowej jest jednokierunkowy. Elementami odbierającymi bodźce są zazwyczaj dendryty, które w związku z tym nazywamy wypustkami aferentnymi lub rzadziej część perikarialna komórki. Powierzchnia odbiorcza (receptyjna) dendrytów ulega znacznemu powiększeniu dzięki temu, iż pokryte są one niezliczoną ilością uwypukleń cytoplazmatycznych zwanych kolcami dendrytycznymi. Zarówno sieć dendrytów, jak i liczba pokrywających je kolców, ulega najgłębszym zmianom ilościowym w życiu osobniczym w sensie tak ich rozbudowy w okresie rozwoju i dojrzewania, jak i zaniku i zmniejszania się w okresie inwolucji. Akson, czyli wypustka osiowa komórki nerwowej, jest jej drogą odśrodkową, przewodzącą impulsy bądź do aparatu wykonawczego, jakim może być np. mięsień, bądź do innej komórki nerwowej. W przeciwieństwie do bogatego rozgałęzienia dendrytów wypustka osiowa jest na ogół wypustką gładką, oddającą na swoim przebiegu nieliczne odgałęzienia boczne zwane kolateralami i ulegającą w swoim końcowym odcinku bogatemu rozgałęzieniu tworzącemu tzw. drzewko końcowe. Zakończenia najdrobniejszych rozgałęzień aksonalnych oraz ich bocznic mają postać kulistych rozszerzeń zwanych guziczkami końcowymi (boutons terminaux) lub kolbkami końcowymi (end-bulbs). Uwidoczniają się one w mikroskopie świetlnym przy zastosowaniu specjalnych technik barwienia lub impregnacji. Wypustka osiowa zarówno w ośrodkowym, jak i w obwodowym układzie nerwowym, poza włóknami układu autonomicznego, otoczona jest na całym swoim przebiegu tzw. osłonką mielinową, stanowiącą produkt kondensacji błon komórek osłonkowych, których funkcje w ośrodkowym układzie nerwowym spełnia glej skąpowypustkowy, a w obwodowym – komórki Schwanna. Jedynymi nieosłoniętymi odcinkami wypustki osiowej pozostają węzły Ranviera, zawarte między poszczególnymi segmentami osłonki mielinowej.

Kolbkowate lub guziczkowate zakończenia wypustki osiowej wchodzi w kontakt z innymi komórkami nerwowymi wytwarzając tu wyspecjalizowane struktury, w których następuje przekazanie impulsu. Noszą one nazwę synaps. Ich morfologia stanowi przedmiot obecnych rozważań.

1

Czynnościowa klasyfikacja synaps

Pod względem czynnościowym wyróżnia się dwa podstawowe typy synaps – synapsy chemiczne i synapsy elektrotoniczne, różniące się od siebie swoim obrazem strukturalnym. W ośrodkowym układzie nerwowym człowieka i wyższych kręgowców dominującym, jeśli nie jedynym, typem synaps są synapsy chemiczne. Synapsy elektrotoniczne występują w układzie nerwowym przedkręgowców i niższych kręgowców, choć w ostatnich latach pojawiły się doniesienia wskazujące na ich obecność w niektórych okolicach ośrodkowego układu nerwowego wyższych kręgowców, m.in. szczurów i kotów. Istota tego podziału zawiera się w fakcie, iż impuls nerwowy, stanowiący w swojej istocie zjawisko bioelektryczne związane ze zmianami polaryzacji błon komórkowych, w synapsach chemicznych przekazywany jest za pośrednictwem substancji chemicznej wydzielanej w zakończeniu nerwowym komórki przekazującej, wywołującej zmiany w polaryzacji wyspecjalizowanego odcinka błony komórkowej komórki odbiorczej. Zmiany polaryzacji mogą mieć charakter depolaryzacji związanej z pobudzeniem komórki lub jej hiperpolaryzacji zachodzącej pod wpływem bodźca hamującego. W synapsach typu elektrotonicznego przekazanie impulsu nerwowego odbywa się bez pośrednictwa substancji chemicznej.

Neuromediatory. Z dotychczasowych badań fizjologicznych, biochemicznych, histochemicznych, farmakologicznych, histofluorescencyjnych i autoradiograficznych wiadomo, że w przekaznictwie chemicznym impulsów nerwowych uczestniczyć mogą liczne substancje chemiczne. Substancje te znane są pod nazwą neuromediatorów bądź neurotransmiterów. Dotychczas poznane są dokładnie dwie duże grupy substancji neurotransmisyjnych, a mianowicie acetylocholina i aminy biogenne – katecholaminy, do których należy noradrenalina, adrenalina i dopamina oraz serotonina. Działanie tych substancji jest znacznie zróżnicowane w poszczególnych częściach układu nerwowego. Ich wspólną cechą jest ich wydzielanie z pobudzonego zakończenia nerwowego oraz zmiana na ściśle określonym czasie potencjału spoczynkowego komórki nerwowej, na którą działają. Ograniczone w czasie działanie neurotransmitera związane jest bądź z jego enzymatycznym rozkładem w miejscu styku synaptycznego,

jak ma to np. miejsce w przypadku acetylocholino, bądź jego usunięcia lub wchłonięcia przez zakończenie nerwowe, jak postulują się dla amin katecholowych i ewentualnych innych substancji neuromediacyjnych. Mechanizm działania neurotransmiterów nie jest dokładnie poznany. Znacomita większość naszej wiedzy w tym zakresie pochodzi z badań nad płytką nerwowo-mięśniową. Wiadomo, że w cholinergicznym zakończeniu mięśniowym w części podsynaptycznej występuje molekularny receptor, który wiążąc substancję neuromediacyjną wyzwała reakcję łańcuchową w błonie komórkowej, zmieniającą jej przepuszczalność dla jonów. Podobny, choć bardziej złożony mechanizm, przypisuje się działaniu katecholamin.

Do innych substancji chemicznych, którym przypisuje się funkcje neuromediacyjne należą: kwas gamma-aminomasłowy (GABA), kwas glutaminowy, kwas asparaginowy, glicyna, substancja P i in. Przypisywanie im funkcji neuromediacyjnych wiąże się przede wszystkim z ich zróżnicowaną zawartością w poszczególnych formacjach układu nerwowego i w jego strukturalno-czynnościowych układach wewnętrznych. Nie jest w istocie wiadomo czy same przez się stanowią one substancje mediacyjne, czy są produktami ich metabolizmu bądź rozkładu.

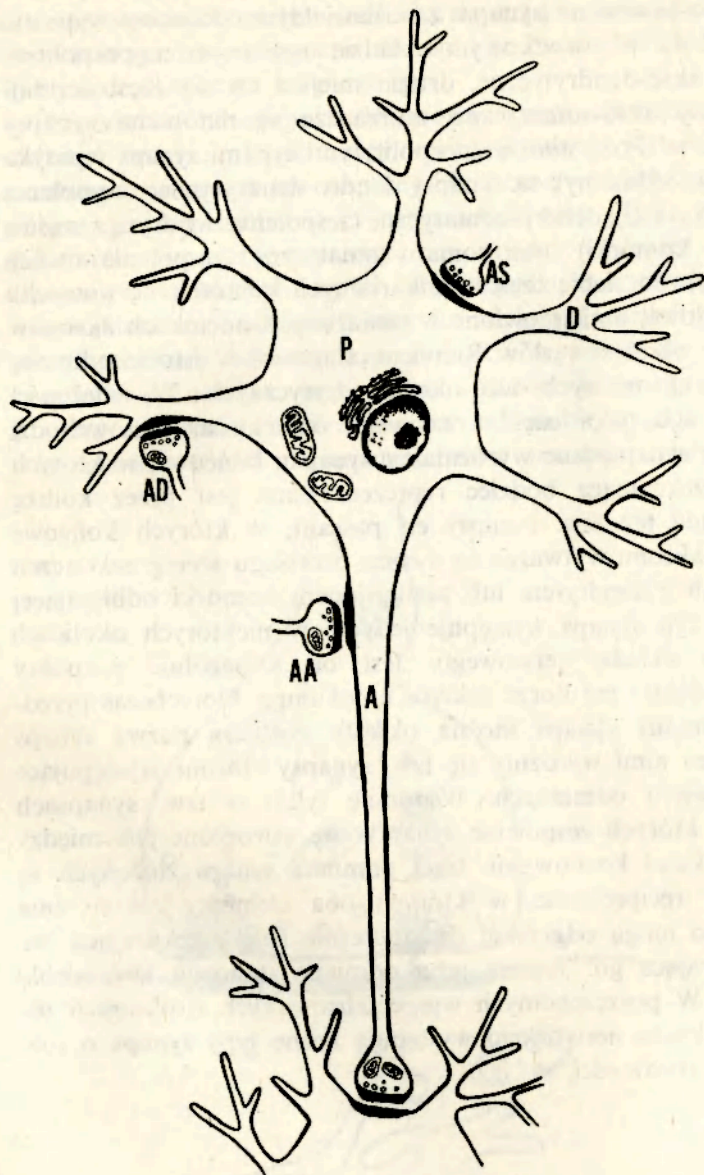
Pod względem czynnościowym wyróżnia się neuromediatory o działaniu pobudzającym lub hamującym. Nie jest to zupełnie ściśle, ponieważ te same substancje w różnych częściach układu nerwowego mogą pełnić bądź jedną, bądź drugą funkcję.

Do pobudzających substancji neuromediacyjnych należą: acetylocholina, noradrenalina, adrenalina, dopamina, serotonina, substancja P. Rolę neuromediatorów hamujących przypisuje się GABA, β -alaninie, glicynie.

2

Typy anatomiczne synaps

W zależności od części komórki nerwowej, z którą zakończenia aksonalne wchodzą w kontakt synaptyczny wyróżnia się zakończenia akso-dendrytyczne (synapsa z dendrytem), których odmianą są zakończenia aksonalno-kolcowe (synapsa z kolcem dendrytycznym), zakończenia akso-somatyczne (synapsa z perikarionem komórki ner-



Rys. 1. Typy anatomiczne synaps (schemat)

P – część perikarialna komórki nerwowej; D – dendryt; A – akson; AS – synapsa akso-somatyczna;
 AD – synapsa akso-dendrytyczna; AA – synapsa akso-aksonalna

wowej) i akso-aksonalne (synapsa z perikarialnym odcinkiem wypustki osiowej, rys. 1). W ośrodkowym układzie nerwowym najpospolitsze są synapsy akso-dendrytyczne, drugie miejsce co do częstości zajmują synapsy akso-somatyczne, najrzadsze są natomiast synapsy akso-aksonalne. Poza nimi najpospolitszymi typami synaps (spotyka się ich rzadsze odmiany), są synapsy dendro-dendrytyczne (zespolenia między dendrytami), dendro-somatyczne (zespolenia dendrytu z częścią perikarialną komórki) oraz somato-somatyczne (zespolenie dwóch przylegających do siebie części perikarialnych komórek nerwowych). Synapsy węzłowe, umiejscowione w obnażonych odcinkach aksonów zawartych w obrębie węzłów Ranviera, stanowią w istocie odmianę synaps akso-aksonalnych lub akso-dendrytycznych. W zależności z kolei od tego, jaka część końcowego odcinka aksonu wchodzi w połączenie synaptyczne wyróżniamy synapsy końcowe, w których komórka przekazująca bodziec reprezentowana jest przez kolbkę końcową, bądź też tzw. synapsy en passant, w których końcowe odgałęzienie aksonu wytwarza na swoim przebiegu szereg zakończeń synaptycznych z dendrytem lub perikarionem komórki odbierającej impuls. Ten typ synaps występuje jedynie w niektórych okolicach ośrodkowego układu nerwowego. Jest on szczególnie pospolity w korze mózdzku oraz korze zakrętu hipokampa. Dotychczas przedstawione odmiany synaps można określić zbiorczą nazwą synaps prostych. Poza nimi wyróżnia się tzw. synapsy złożone występujące również w wielu odmianach. Wspomnę tylko o tzw. synapsach seryjnych, w których zespolenie synaptyczne utworzone jest między dwiema kolbkami końcowymi. Inną odmianą synaps złożonych są tzw. synapsy recyprokalne, w których oba elementy zakończenia synaptycznego mogą odgrywać równocześnie rolę przekazującą impuls i odbierającą go. Jeszcze inną odmianę stanowią tzw. kłębki synaptyczne. W poszczególnych wyspecjalizowanych strukturach ośrodkowego układu nerwowego występują liczne typy synaps o różnym stopniu złożoności.

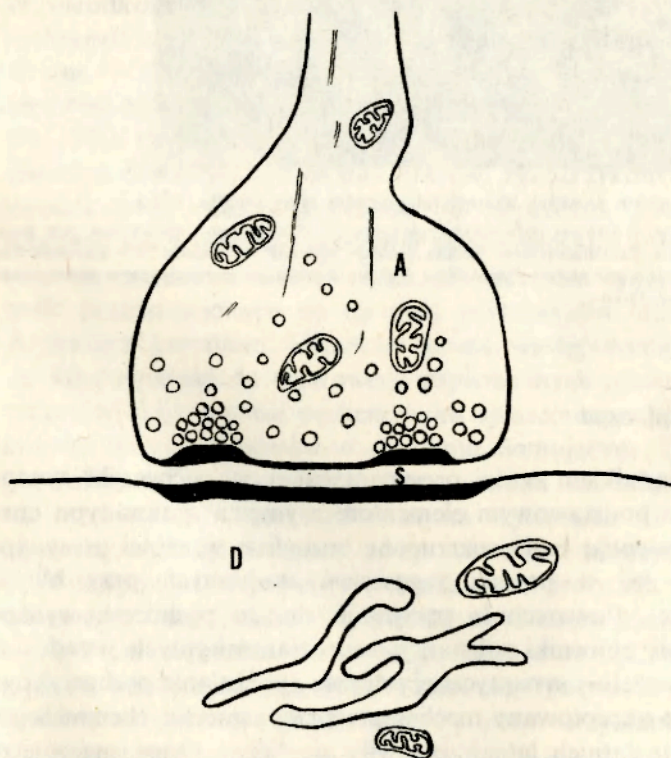
3

Struktura synapsy chemicznej

Zastosowanie mikroskopii elektronowej do badań ośrodkowego układu nerwowego umożliwiło dokładne poznanie synaps i sformu-

łowanie hipotezy o mechanizmie ich funkcjonowania. Podstawowych danych o strukturze synaps dostarczyły badania Palade i Palaya, Palaya, de Robertisa i Franchiego.

Niezależnie od stopnia złożoności synaps chemicznych ich zasadniczy wzorzec strukturalny uwarunkowany jednokierunkowym przebiegiem impulsu jest wspólny. Podstawową cechą synapsy chemicznej jest jej asymetria; synapsa chemiczna składa się z dwóch elementów – części presynaptycznej, utworzonej przez zakończenie aksonu przekazującego impuls i części postsynaptycznej, stanowiącej wyspecjalizowany odcinek błony komórkowej perikarionu lub wypustek neuronu odbierającego impuls. Zwrócone do siebie błony komórkowe, noszące odpowiednio nazwę błony presynaptycznej i postsynaptycznej, oddzielone są od siebie wąską przestrzenią o wymiarach 15–50 nm noszącą nazwę szczeliny synaptycznej (rys.



Rys. 2. Schematyczny obraz synapsy chemicznej

A – część presynaptyczna; D – część postsynaptyczna; S – szczelina synaptyczna

2 i 3). Obie błony wykazują charakterystyczne zgrubienie i zagęszczenie noszące odpowiednio nazwę cytoplazmatycznych zagęszczeń pre- i postsynaptycznych. Ich szerokość wykazuje stosunkowo znaczne zróżnicowanie i stała się jednym z kryteriów różnicowania poszczególnych odmian synaps.



Rys. 3. Elektronogram synapsy akso-dendrytycznej typu chemicznego

Część presynaptyczna (A) wypełniona pęcherzykami synaptycznymi. Zbite skupienia pęcherzyków przy presynaptycznym zagęszczeniu cytoplazmatycznym. Strzałka pokazuje pęcherzyk opłaszczony. M – mitochondrium; S – szczelina synaptyczna. Część postsynaptyczna (D) z wyraźnie zarysowanym postsynaptycznym zagęszczeniem cytoplazmatycznym (pow. 18000×)

3.1

Część presynaptyczna

Stałym składnikiem części presynaptycznej są pęcherzyki synaptyczne. Są one podstawowym elementem asymetrii synaps typu chemicznego. Występują bądź rozrzucone bezładnie w części presynaptycznej, bądź też w postaci zagęszczeń skupionych przy błonie presynaptycznej. Powszechnie przyjmuje się, że pęcherzyki synaptyczne stanowią zbiorniki substancji neurotransmisyjnych przedostających się do szczeliny synaptycznej poprzez opróżnianie pęcherzyków. Jest to ogólnie akceptowany mechanizm przekąźnictwa chemicznego, jakkolwiek w ostatnich latach pojawiły się liczne prace sugerujące, że może on być nie jedynym mechanizmem, przynajmniej w przypadku

acetylocholin. Pęcherzyki synaptyczne charakteryzuje znaczne zróżnicowanie wielkości i obrazu mikroskopowo-elektronowego. Najpospoliej występują małe okrągłe pęcherzyki o rozmiarach 40–60 nm, wypełnione elektronowo-jasną zawartością. Uznaje się je za nośniki acetylocholin. Pomędzy nimi występują pojedyncze pęcherzyki o średnicy 70–100 nm wypełnione ciemną zawartością. W piśmiennictwie anglosaskim określane są one nazwą „dense core vesicles”. Uważa się, że zawierają one neuromediatory o charakterze katecholamin. Wskazuje na to obecność analogicznych, choć mniejszych pęcherzyków o średnicy około 50 nm w zakończeniach nerwów współczulnych, które za pomocą metod autoradiograficznych i histochemicznych zostały zidentyfikowane jako zawierające aminy katecholowe. Podobne badania przeprowadzone na materiale z ośrodkowego układu nerwowego potwierdziły ich katecholaminową zawartość. W ośrodkowym układzie nerwowym występują ponadto mniejsze pęcherzyki o ciemnej zawartości, których średnica wynosi około 70 nm. W kolbce presynaptycznej spotyka się ponadto pęcherzyki otoczone podwójną błoną noszącą nazwę pęcherzyków opłaszczonych. Ich cechą charakterystyczną jest to, że błona zewnętrzna wykazuje obecność promienistego układu kolców. Pęcherzykom tym przypisuje się całkowicie odmienną funkcję od poprzednich, a ich obecność stanowić ma wykładnik procesów mikropinocytozy związanej z reutilizacją mediatora wydzielonego do szczeliny synaptycznej. Większość przedstawionych do tej pory pęcherzyków charakteryzuje się sferycznym kształtem. Uchizono opisał występowanie w synapsach ośrodkowego układu nerwowego elipsoidalnych pęcherzyków synaptycznych, które nazwał pęcherzykami spłaszczonymi, uważając je za nośniki neuromediatorów o działaniu hamującym. Dalsze badania pozwoliły na wyodrębnienie całego szeregu ich odmian różniących się rozmiarami i kształtem oraz na wykazanie, iż stanowią one zapewne artefakt związany z opracowaniem materiału do badań mikroskopowo-elektronowych. Artefakt ten jednakże należy zaliczyć do kategorii tzw. artefaktów znaczących. Zmiana kształtu ze sferycznego, który wykazują wszystkie pęcherzyki w tzw. technice freeze-etching pozwalającej na zachowanie przyżyciowej struktury pęcherzyków, na spłaszczony jednej grupy przy utrzymaniu kształtu sferycznego przez inne w tych samych warunkach utrwalania materiału, sugeruje odmienną ich zawartość lub różny stan czynnościowy.

Poszczególne populacje pęcherzyków są w różnych proporcjach wymieszane ze sobą w jednej kolbce synaptycznej lub też występują w nich w postaci wyodrębnionych populacji. Dało to asumpt do wyróżnienia trzech podtypów synaps chemicznych: tzw. synaps S – pobudzających, synaps F – hamujących i synaps C – wypełnionych pęcherzykami o ciemnej zawartości – synaps katecholaminowych.

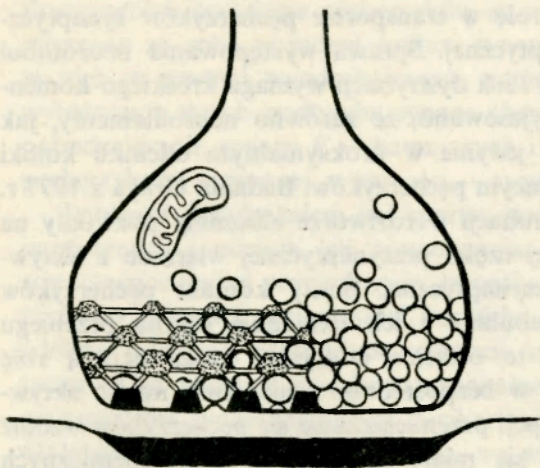
Istotnym zagadnieniem jest sprawa pochodzenia pęcherzyków synaptycznych i miejsca ich powstawania. Na podstawie dotychczasowych spostrzeżeń przyjmuje się, że pęcherzyki synaptyczne powstają zarówno w części perikarialnej komórki, jak i na całym przebiegu włókna osiowego, skąd transportowane są do zakończeń presynaptycznych na zasadzie przepływu aksonalnego. Miejscem wytwarzania pęcherzyków synaptycznych w perikarionie komórki ma być aparat Golgiego i siatka śródplazmatyczna, we włóknie osiowym – zawarte w nim kanały gładkiej siatki śródplazmatycznej. Przyjmuje się również, że pęcherzyki synaptyczne powstają lokalnie w synapsach poprzez ich odszczepianie się od występujących tu kanałów i zbiorników gładkiej siatki, powstawania od nowa w cytoplazmie zakończeń nerwowych bądź też zwrotnej mikropinocytozy neuromediatora ze szczeliny synaptycznej.

Jakkolwiek powstawanie pęcherzyków synaptycznych w kolbkach presynaptycznych wydaje się faktem bezspornym, wynikającym przede wszystkim ze spostrzeżeń fizjologicznych i biochemicznych, w ostatnich latach podniesiono zagadnienie ich przeżyciowego, czy też artefaktycznego charakteru. Zastosowanie techniki negatywowej do mikroskopowo-elektronowego badania synaps pozwoliło na stwierdzenie, że kolbka presynaptyczna jest wypełniona profilami tubularnymi bez możliwości wykazania struktur pęcherzykowych. Dało to asumpt do przypuszczenia, że pęcherzyki synaptyczne mogą być tworamii sztucznymi, stanowiącymi produkt procedury utrwalania materiału do badań mikroskopowo-elektronowych, a właściwymi zbiornikami neurotransmitera mogą być kanały i zbiorniki gładkiej siatki, która – jak wykazano przy zastosowaniu techniki preinkubacji w roztworze albuminy poprzedzającej utrwalenie materiału – dochodzić może do samej błony presynaptycznej.

Stałymi składnikami części presynaptycznej są ponadto mitochondria, ciała wielopęcherzykowe i gęste oraz neurofilamenty i neurotubule, stanowiące twory o strukturze białkowej i odgrywające, jak

się przypuszcza, istotną rolę w transporcie pęcherzyków synaptycznych do kolbki presynaptycznej. Sprawa występowania neurotubul w kolbce presynaptycznej i ich dystrybucji wymaga krótkiego komentarza. Do niedawna przyjmowano, że zarówno neurofilamenty, jak i neurotubule występują jedynie w proksymalnym odcinku kolbki synaptycznej, nie zawierającym pęcherzyków. Badania Graya z 1977 r. przy zastosowaniu preinkubacji w roztworze albuminy pozwoliły na ich uwidocznienie w całej części presynaptycznej włącznie z aktywnym centrum błony presynaptycznej. Ścisły kontakt pęcherzyków synaptycznych z neurotubulami i ich układanie się na przebiegu neurotubul sugeruje, że te ostatnie odgrywać mogą istotną rolę w agregacji pęcherzyków w bezpośrednim sąsiedztwie miejsc aktywnych. Według tejże koncepcji przemieszczanie się pęcherzyków wzdłuż neurotubul odbywać by się miało na zasadzie fizykochemicznych zjawisk powierzchniowych.

Kolejnym elementem strukturalnym kolbki presynaptycznej jest tzw. cytoplazmatyczne zagęszczenie presynaptyczne, które w rutynowych obrazach elektronowo-mikroskopowych przedstawia się w postaci litego pasma osmofilnego o szerokości do 80 nm, położonego w bezpośrednim sąsiedztwie błony presynaptycznej i przez część autorów uważanego za jej wytwór. Badania Graya z 1966 r., w których zastosowano specjalne techniki histochemiczne (Osmicated-PTA) pozwoliły na stwierdzenie, że w istocie składa się ono z szeregu prostopadłych do błony presynaptycznej stożkowatych, elektronowo-gęstych wypustek osiagających wysokość do 80 nm, a których szerokość podstawy wynosi około 50 nm. Poszczególne wypustki osmofilne oddzielone są od siebie wolną przestrzenią o szerokości 20–50 nm. Gray przypuszczał, że ten właśnie układ osmofilnych wypustek związanych z błoną presynaptyczną zabezpiecza przesuwanie się pęcherzyków synaptycznych do jej właściwych miejsc. Spostrzeżenia Blooma i wsp. (1970) oraz Akerta i wsp. (1972) przy zastosowaniu zmodyfikowanych technik histochemicznych potwierdziły obserwacje Graya. Pfenninger i wsp. (1969) stosując bizmutowo-jodkową technikę histochemiczną i posługując się różnopłaszczyznowymi przekrojami przez synapsę stwierdzili, że stożkowate wypustki presynaptyczne połączone są ze sobą strukturami fibrilarnymi i tworzą węzłowe punkty trójwymiarowego układu przestrzennego, nazwanego presynaptyczną siecią pęcherzykową (presynaptic vesicular grid)



Rys. 4. Schematyczny obraz presynaptycznej sieci pęcherzykowej (presynaptic vesicular grid) wg Akermana i wsp. W oczka sieci wnikają pęcherzyki synaptyczne

o strukturze heksagonalnej kratownicy. W puste przestrzenie kratownicy wnikają pęcherzyki synaptyczne, skąd ich zawartość zostaje wydzielona do szczeliny synaptycznej (rys. 4). Należy przy tym podkreślić, że w różnych synapsach presynaptyczne zagęszczenie cytoplazmatyczne zajmuje różne, mniejsze lub większe odcinki błony presynaptycznej, określając jej miejsca aktywne, tj. te, w których następuje wydzielanie substancji neurotransmisyjnej. Zastosowanie techniki freeze-etching uwidoczniające zewnętrzną powierzchnię błony presynaptycznej pozwoliło na stwierdzenie występowania w jej ograniczonych odcinkach skupień drobnych zagłębień, nazwanych synaptoporami, które mogą odpowiadać miejscom otwarcia pęcherzyków synaptycznych do szczeliny. Na powierzchni wewnętrznej błony synaptycznej mają one wygląd drobnych kraterów. Ich układ przestrzenny w przybliżeniu, acz niedokładnie, odpowiada układowi presynaptycznej sieci pęcherzykowej.

3.2

Część postsynaptyczna

Część postsynaptyczna ma stosunkowo prostszą budowę. Tworzy ją wyspecjalizowany odcinek błony komórkowej perikarium bądź

dendrytu. Występuje w niej również charakterystyczne zagęszczenie cytoplazmatyczne noszące nazwę postsynaptycznego zagęszczenia cytoplazmatycznego. Jest ono ciągłą strukturą osmofilną o bardziej delikatnym i bardziej zbitym utkaniu niż zagęszczenie presynaptyczne oraz zmiennej szerokości wahającej się od 10 do 50 nm. Składa się ono z gęstej sieci filamentów. Niektórzy autorzy przypuszczają, że wnikają one do szczeliny synaptycznej. Zmienna szerokość oraz słaba impregnacja solami osmu sprawia, że w niektórych synapsach zagęszczenie postsynaptyczne jest mało widoczne. Uwidocznia się ono stosunkowo najlepiej w impregnacji solami bizmutu i jodku oraz cynku i jodku. Te same techniki, głównie w synapsach akso-somatycznych, pozwalają na uwidocznienie rzędowego układu paciorkowatych struktur tworzących tzw. twór podsynaptyczny. Struktura ta połączona cienkimi filamentami z właściwym zagęszczeniem postsynaptycznym uważana jest za jego część składową. Pod zagęszczeniem postsynaptycznym skupiają się poszerzone zbiorniki podsynaptyczne. Widoczne też są również liczne twory wielopęcherzykowe uznawane za zbiorniki materiału pobranego drogą mikro-pinocytozy, opłaszczone pęcherzyki i opłaszczone inwaginacje błony komórkowej. Skupiają się tu również mitochondria oraz kanały szorstkiej siatki śródplazmatycznej.

3.3

Szczelina synaptyczna

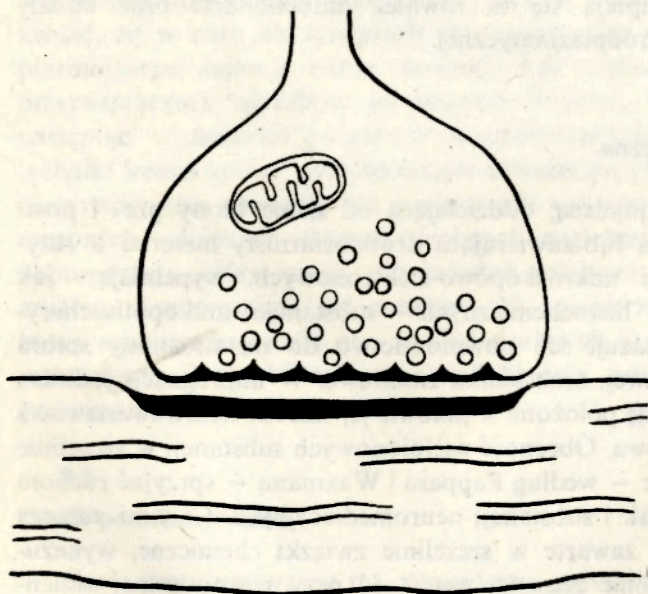
Szczelinę synaptyczną, oddzielającą od siebie błony pre- i postsynaptyczne, pustą lub zawierającą drobnoziarnisty materiał w rutynowych obrazach mikroskopowo-elektronowych, wypełniają – jak wynika z badań histochemicznych – substancje mukopolisacharydowe, na co wskazuje ich powinowactwo do metanoaminy srebra i czerwieni rutenowej, oraz białka zasadowe. W impregnacji jodkiem bizmutu ujawnia się położona w połowie jej szerokości dwuwarstwowa linia śródszczelinowa. Obecność wielojonowych substancji w szczelinie synaptycznej może – według Pappasa i Waxmana – sprzyjać ruchom zarówno jonów, jak i substancji neuromediacyjnych. Ci sami autorzy przypuszczają, że zawarte w szczelinie związki chemiczne, wykazujące prawdopodobnie znaczną swoistość przy równoczesnej zmienności w różnych synapsach mają stanowić chemiczną podstawę

rozpoznawania neuromediatorów, warunkując swoistość procesu synaptogenezy. Brand i Pappas w 1960 r. wysunęli hipotezę, że zawarte w szczeliny synaptycznej substancje mogą odgrywać rolę chemicznych stymulatorów zjawiska mikropinocytozy, występującego w błonie zarówno pre- jak i postsynaptycznej, a spełniającego, jak się przypuszcza, istotną rolę w zwrotnym transporcie substancji neuromediacyjnych.

3.4

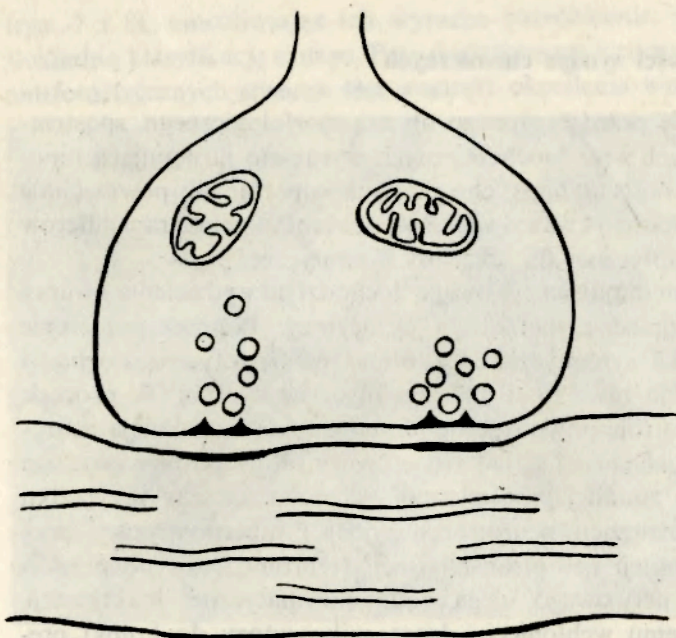
Typy synaps

Analiza zmienności i powtarzalności struktury synaps chemicznych w ośrodkowym układzie nerwowym pozwoliła Grayowi na dostrzeżenie pewnych prawidłowości stanowiących podstawę do ich podziału na dwa zasadnicze typy w zależności od obrazu mikroskopowego części pre- i postsynaptycznej oraz szczeliny synaptycznej. Typ I Graya (rys. 5) charakteryzuje się szerokim zagęszczeniem presynaptycznym, osiągającym wysokość do 80 nm, szerokim zagęszczeniem postsynaptycznym – do 50 nm oraz szeroką szczeliną synaptyczną –



Rys. 5. Schemat synapsy typu I wg Graya

Zwróć uwagę na szerokość zagęszczenia pre- i postsynaptycznego oraz szerokość szczeliny synaptycznej



Rys. 6. Schemat synapsy typu II wg Graya

W porównaniu z synapsą typu I (patrz rys. 5) zwraca uwagę mniejsze zagęszczenie presynaptyczne, bardzo wąskie zagęszczenie postsynaptyczne i wąska szczelina synaptyczna

do 18 nm. Występująca w nich presynaptyczna sieć pęcherzykowa ma większe rozmiary, a średnica samych pęcherzyków synaptycznych sięga 50 nm. Strefa aktywna zajmuje większy obszar, a odległość między synaptoporami wynosi około 60 nm. W typie II (rys. 6) szerokość zagęszczenia presynaptycznego wynosi do 60 nm, szczeliny synaptycznej około 13 nm, a zagęszczenia postsynaptycznego zaledwie około 10 nm. Presynaptyczna sieć pęcherzykowa ma delikatniejszą strukturę, a występujące tu pęcherzyki są mniejsze. Średnica pęcherzyków okrągłych nie przekracza na ogół 40 nm. Pole aktywne jest zwykle mniejsze, często nieciągłe, a odległości między synaptoporami wynoszą zwykle około 47 nm. Gray wysunął hipotezę, że synapsy typu I są synapsami pobudzającymi, podczas gdy typ II reprezentuje synapsy hamujące. Późniejsze obserwacje Uchizono pozwoliły na stwierdzenie, że w synapsach typu II przeważa populacja pęcherzyków spłaszczonych, co w jego przeświadczeniu ma potwierdzić ich hamujący charakter. Mimo pojawiających się opinii podważających ten pogląd typologia Graya znajduje do dziś szerokie zastosowanie.

3.5

Hipoteza czynności synaps chemicznych

Na podstawie przedstawionego obrazu morfologicznego, spostrzeżeń fizjologicznych oraz biochemicznych wysunięto następującą hipotezę funkcjonowania synaps chemicznych, opartą na powszechnie akceptowanej teorii kwantowego wydzielania neurotransmiterów z części presynaptycznej do szczeliny synaptycznej.

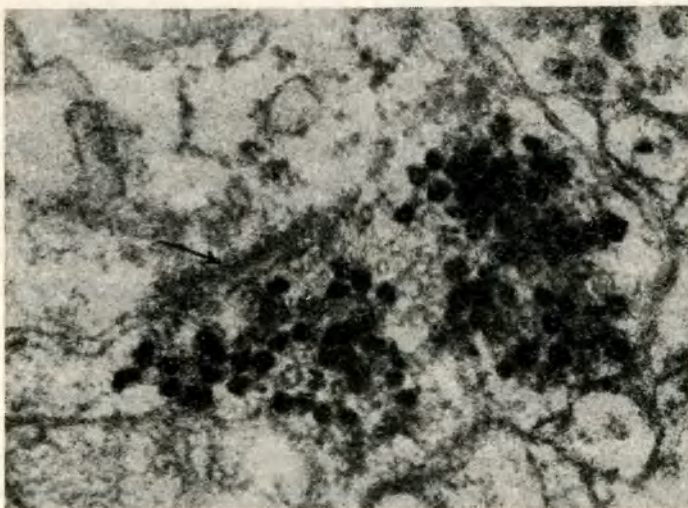
Pod wpływem impulsu nerwowego dochodzi do wydzielenia kwantu substancji neuromediacyjnej drogą egzocytozy. Poprzez połączenie błony pęcherzyka synaptycznego z błoną presynaptyczną dochodzi do „wylania” jego zawartości do szczeliny synaptycznej. W procesie tym podstawową rolę przypisuje się jonom wapnia. Substancja neurotransmisyjna działając na układ receptorowy błony postsynaptycznej doprowadza do zmian jej polaryzacji – depolaryzacji w przypadku pobudzającej substancji neurotransmisyjnej i hiperpolaryzacji przy hamującej substancji neurotransmisyjnej. Neuromediator po przekazaniu impulsu nerwowego ulega bądź enzymatycznej inaktywacji, bądź też wtórnemu wchłonięciu drogą mikrocytozy do kolbki presynaptycznej. Ulegający resorbcji neuromediator, występujący bądź w postaci natywnej, bądź jako produkt jego metabolizmu, drogą pęcherzyków oplaszczonych zostaje następnie przetransportowany do miejsc produkujących substancje neurotransmisyjne w zakończeniu synaptycznym. Za strukturę taką uważa się powszechnie siatkę śródplazmatyczną. Mechanizm ten zapewnia jego przynajmniej częściowe wykorzystanie w dalszych cyklach neurotransmisyjnych.

3.6

Morfologiczne metody oceny stanu czynnościowego synaps

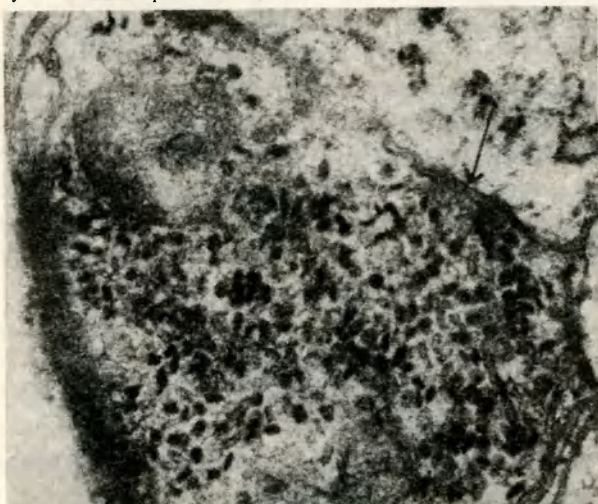
Na zakończenie omawiania struktury synaps chemicznych wspomnieć należy o morfologicznych próbach oceny ich stanu czynnościowego, zastrzegając się od razu co do zakresu ich użyteczności i dokładności. W celach tych najczęściej stosowana jest histochemiczna metoda cynkowo-jodkowo-osmowa (ZIO), opisana przez Mailleta w 1962 r. Pozwala ona na uwidocznienie zawartości pęcherzyków synaptycznych. Wbrew pierwotnym przypuszczeniom metoda ta nie ujawnia żadnego określonego neuromediatora. Pozwala ona jedynie na lepsze uwidocznienie pęcherzyków, niezależnie od ich charakteru

(rys. 7 i 8), umożliwiając ich wyraźne rozróżnienie, a dzięki temu dokładną klasyfikację synaps. Przy dodatkowym zastosowaniu technik morfometrycznych stwarza ona warunki określenia wzajemnych pro-



Rys. 7. Synapsa typu S w impregnacji ZIO

Część presynaptyczna wypełniona sferycznymi pęcherzykami, z których większość jest wyimpregnowana. Część populacji pęcherzykowej pozostała niewyimpregnowana. Wyraźna szczelina synaptyczna i zagęszczenie postsynaptyczne – strzałka (pow. 37 000 ×)



Rys. 8. Synapsa typu F w impregnacji ZIO

Część presynaptyczna wypełniona pęcherzykami spłaszczonymi, w znacznej części wyimpregnowanymi dodatnio. Część populacji stanowią pęcherzyki sferyczne. Wąska szczelina synaptyczna i ledwie zaznaczone postsynaptyczne zagęszczenie cytoplazmatyczne – strzałka (pow. 37 000 ×)

porcji pęcherzyków impregnujących się i nieimpregnujących się oraz oceny zmian w tych proporcjach zachodzących w różnych stanach czynnościowych i w warunkach patologicznych. Należy przy tym zwrócić uwagę, że już w warunkach fizjologicznych występuje znaczna zmienność w zawartości pęcherzyków ZIO-dodatnich i ujemnych zarówno w synapsach typu S i F.

W badaniach synaps stosuje się znaczną liczbę technik morfometrycznych. Najpospoliej stosowana polega na przyłożeniu do zdjęcia mikroskopowo-elektronowego synapsy siatki o określonej krawędzi oczek. Pozwala to na ilościową charakterystykę populacji pęcherzykowej w określonym obszarze synapsy lub w całym polu synaptycznym, ustalenie proporcji poszczególnych typów pęcherzyków i dynamiczne prześledzenie zmian w przebiegu procesów czynnościowych i patologicznych. Wspomniana powyżej technika morfometryczna znalazła szerokie zastosowanie m.in. w badaniu stanu synaps w doświadczalnej padaczce.

4

Synapsy elektrotoniczne

Jak wspomniano poprzednio, obok chemicznego typu synaps, stanowiącego, jak się wydaje, podstawowy rodzaj przekąźnictwa pomiędzy komórkami nerwowymi oraz komórkami nerwowymi i ich efektorami, istnieje drugi typ określony nazwą synaps elektrotonicznych, w których przekazywanie impulsu nerwowego odbywa się bez pośrednictwa wyspecjalizowanych substancji chemicznych. Fizjologiczną przesłanką ich wyodrębnienia jest fakt, że w niektórych obszarach układu nerwowego lub złączach nerwowo-efektorowych u wielu zwierząt niższych – przedkręgowców oraz płazów, gadów i ryb – w przewodzeniu impulsów nie występuje charakterystyczne opóźnienie synaptyczne. Próba wykazania strukturalnych wykładników tych zjawisk fizjologicznych doprowadziła do wyodrębnienia synaps, różniących się od opisanych poprzednio dwiema podstawowymi cechami morfologicznymi, a mianowicie symetrią obu składowych złącza oraz brakiem charakterystycznej dla synaps chemicznych szczeliny. Spostrzeżenia wcześniejszych badaczy, takich jak Bennett i wsp. lub Pappas i Bennett sugerowały, że w zespoleniach elektro-

tonicznych stykające się ze sobą błony dwóch komórek nerwowych są ściśle zespolone, zlewają się ze sobą. Późniejsze badania, przy wykorzystaniu lepszych technik utrwalania, a zwłaszcza przy użyciu substancji zmniejszających przenikanie elektronów, takich jak lantan, a przede wszystkim peroksydaza chrzanowa podawanych do przestrzeni pozakomórkowej, pozwoliły na wykazanie, że przylegające do siebie błony komórkowe synapsy elektrotonicznej oddziela szczelina o szerokości 2 nm (szerokość szczeliny synaptycznej w synapsach chemicznych wynosi około 18–20 nm). Szczelina ta, jak wykazało zewnątrzkomórkowe zastosowanie peroksydazy chrzanowej, komunikuje się z przestrzenią międzykomórkową. Ten typ połączeń międzykomórkowych, występujący również poza układem nerwowym, nosi nazwę połączeń rozwartych (gap junction). Struktura szczeliny synaptycznej typu elektrotonicznego okazała się jednak bardziej złożona. Mikroskop elektronowy w materiale utwalonym uprzednio w nadmanganianie potasu wykazuje, że zespolenie międzykomórkowe w synapsie elektrotonicznej wypełnione jest układem osmofilnych promienistości położonych w odległości około 18 nm, łączących ze sobą przylegające powierzchnie komórkowe i rozdzielających przestrzeń szczeliny synaptycznej na szereg komunikujących się ze sobą mniejszych przedziałów. Układ osmofilnych promienistości na przekroju poprzecznym nadaje przestrzeni zespalającej charakterystyczne prążkowanie.

Zastosowanie jontoforezy substancji wykazujących zdolność fluorescencji pozwoliło z kolei na stwierdzenie istnienia w synapsach elektrotonicznych systemu kanałów łączących stykające się ze sobą komórki. System ten pozwalający na przechodzenie z jednej komórki do drugiej jonów oraz szeregu drobnocząsteczkowych substancji, takich jak cukroza lub czerwień obojętna, oddzielony jest całkowicie od układu przestrzeni wypełniających szczelinę synaptyczną o szerokości 2nm. Na podstawie obrazów uzyskanych przede wszystkim techniką freeze-etching można przypuszczać, że kanaliki te przebiegają w obrębie osmofilnych promienistości łączących obie powierzchnie komórkowe, a ich ujścia położone są na obu końcach promienistości.

Podobnie jak w przypadku synaps chemicznych można w zależności od zespolonych części komórki nerwowej wyróżnić kilka typów synaps elektrotonicznych. Są to synapsy akso-dendrytyczne, akso-so-

matyczne, akso-aksonalne. Występują tu również znacznie rzadziej synapsy dendro-dendrytyczne, somato-somatyczne i dendro-somatyczne.

Pojęcie części pre- i postsynaptycznej zespolecia synaptycznego, odzwierciedlające w przypadku synaps chemicznych zarówno ich morfologiczną asymetrię, jak i czynnościową jednokierunkowość, ulega zatarciu w synapsach elektrotonicznych. Symetria strukturalna i ekwiwalencja elementów komórkowych tworzących zespolecie np. somato-somatyczne sugeruje dwukierunkowy przepływ impulsów. Ta właśnie dwukierunkowość przepływu impulsu wydaje się być charakterystyczna dla synaps typu elektrotonicznego.

Dwa fakty dotyczące synaps elektrotonicznych zasługują na odrębną uwagę. Pierwszy z nich wynika ze współistnienia w tych samych układach czynnościowych, a nawet w tych samych komórkach zespoleń typu chemicznego i elektrotonicznego. Drugi wiąże się z istnieniem synaps o strukturze mieszanej. U niektórych ryb i ptaków wykazano obecność mniejszych lub większych skupień pęcherzyków synaptycznych w aksonach tworzący synapsy typu elektrotonicznego. Pęcherzyki te o swojej strukturze zbliżonej do występujących w synapsach typu chemicznego, zarówno okrągłe jak i owalne, jasne oraz z zagęszczonym wnętrzem, nie tworzą jednakże charakterystycznych skupień w bezpośrednim sąsiedztwie zespoleń błon komórkowych. Funkcja synaps o mieszanej strukturze nie jest do dziś poznana.

8

Narząd neurohemalny

Na zakończenie wydaje się zasadne krótkie choćby zatrzymanie się na obrazie morfologicznym struktur, które wprawdzie synapsami nie są, lecz wykazują liczne zarówno morfologiczne, jak i czynnościowe podobieństwa z synapsami. Chodzi tu o zakończenia neuronów neurosekrecyjnych, tworzących wraz z naczyniami włosowatymi tzw. narząd neurohemalny zlokalizowany w układzie podwzgórzowo-przysadkowym, a przede wszystkim w wyniosłości pośrodkowej i w tylnym płacie przysadki. Zagadnienie to stanowi przedmiot sam w sobie. W tym miejscu należy tylko przypomnieć, że wyspecjalizo-

wane struktury ośrodkowego układu nerwowego pełnią czynności wewnątrzwydzielnicze, polegające na produkowaniu neurohormonów, wydzielanych następnie do krwiobiegu. Część z neurohormonów odgrywa podstawową rolę w regulacji czynności gruczołowej części przysadki, inne przedostając się do ogólnego krążenia spełniają szereg zróżnicowanych ogólnoustrojowych czynności regulacyjnych. Najlepiej poznanym układem jest podwzgórzowo-przysadkowy układ neurosekrecyjny wytwarzający hormon antydiuretyczny, czyli wazopresynę i oksytocynę. Substancje czynne wytwarzane w komórkach nerwowych jąder nadwzrokowych i przykomorowych transportowane są w pęcherzykach neurosekrecyjnych drogą odpowiednich szlaków podwzgórzowo-przysadkowych do tylnego płata przysadki. Tu właśnie kolbkowate zakończenia aksonów biegnących w tych szlakach tworzą wraz z naczyniami włosowatymi wspomniany powyżej narząd neurohemalny, w którym następuje wydzielenie neurohormonu do układu krążenia.

Naczynia włosowate tylnej części przysadki otoczone są kolbkowatymi zakończeniami włókien osiowych (rys. 9). W kolbkach tych, których błona ma charakter błony presynaptycznej, nagromadzone



Rys. 9. Narząd neurohemalny

Naczynie włosowate (V) otoczone zakończeniami włókien neurosekrecyjnych (A) wypełnionych ciemnymi ziarnami neurosekrecyjnymi. G – wypustka pituicytu (pow. 2200 \times)

są dwa typy pęcherzyków. Pierwsze z nich, obfite, stanowią elektro-nowo-gęste ziarna neurosekrecyjne o wymiarach 120–200 nm., drugie, mniej obfite, wymieszane z nimi mają morfologiczne cechy pęcherzyków występujących w typowych zakończeniach synaptycznych. Są to jasne okrągłe pęcherzyki o rozmiarach 40–70 nm. Ich rola nie jest jednoznaczna, przypuszcza się, że mogą odgrywać dodatkową funkcję w wydzielaniu neurohormonu. W zakończeniach aksonalnych narządu neurohemalnego znajdują się ponadto inne typowe składniki komórkowe takie, jak mitochondria, gładka siatka śródplazmatyczna, tubule. Neurohormony wydzielane są drogą egzocytozy do przestrzeni okołonaczyniowej, a stąd do światła naczyń. Znajdującym się w przestrzeni okołonaczyniowej pituicytom, stanowiącym wyspecjalizowany rodzaj gleju, obok czynności podporowej i fagocytarnej przypisuje się czynny udział w procesie neurosekrecji.

Literatura

- AKERT K., PFENNINGER C., SANDRI C., MOOR H., *Freeze etching and cytochemistry of vesicles and membrane complexes in synapses of the central nervous system*, [w:] *Structure and Function of Synapses*, G. D. Pappas, D. P. Purpura (eds.), Raven Press, New York 1972, s. 67–86.
- BENNET W. V. L., NAKAJIMA Y., PAPPAS G. D., *Physiology and ultrastructure of electrotonic junctions. III. Giant electromotor neurons of Malapterurus electricus* J. Neurophysiol., 30 (1967) 161–179.
- BLOOM F. E., *Correlating structure and function of synaptic ultrastructure*, [w:] *The Neurosciences*, F. O. Schmitt (ed.) Rockefeller U. Press, New York 1970, s. 729–739.
- BLOOM F., *The formation of synaptic junctions in developing rat brain.*, [w:] *Structure and Function of Synapses*, G. D. Pappas, D. P. Purpura (eds.), Raven Press, New York 1972, s. 1–43.
- BODIAN D., *Synaptic types on spinal motoneurons. An electron microscopic study*, Bull. Johns Hopkins Hosp. 119 (1966) 16–27.
- BODIAN D., *Synaptic diversity and characterization by electron microscopy*, [w:] *Structure and Function of Synapses*. G. D. Pappas, D. P. Purpura (eds.), Raven Press, New York 1972, 45–65.
- BRANDT P. W., PAPPAS G. D., *An electron microscopic study of pinocytosis in amoeba. I. The surface attachment phase*, J. biophys. biochem. Cytol., 8 (1960) 675–687.
- DE ROBERTIS F. D. P., FRANCHI C. M., *Electron microscopy observations on synaptic vesicles in synapses of retinal rods and cones*, J. biophys. biochem. Cytol., 2 (1956) 307–318.

- GRAY E. G., *Axo-somatic and axo-dendritic synapses of the cerebral cortex. An electron microscope study*, J. Anat. 93 (1959) 420-433.
- GRAY E. G., *Problems of interpreting the fine structure of vertebrate and invertebrate synapses*, Int. Rev. Gen. Exp. Zool., 2 (1966) 139-170.
- GRAY E. G., *Electron microscopy of excitatory and inhibitory synapses. A brief review*, [w:] *Mechanism of synaptic transmission*. K. Akert. P. G. Waser (eds.), Progr. Brain Res. Elsevier Amsterdam 1969, 31, 141-172.
- GRAY E. G., *Presynaptic microtubules, agranular reticulum and synaptic vesicles*, [w:] *Synapses*. G. L. Cottrell, P. N. R. Usherwood (eds), Blackie. Glasgow, London, (1977) s. 6-18.
- MAILLET M., *La technique du Champy à l'osmium ioduré de potassium et la modification de Maillet à l'osmium-iodure de zinc*. Trab. Inst. Cajal Biol., 54 (1962) 1-36.
- PALADE G. E., PALAY S. L., *Electron microscopic observations of interneuronal and neuromuscular synapses*, Anat. Rec. 118 (1954) 335-347.
- PALAY S. L., *Synapses in the central nervous system*, J. biophys. biochem. Cytol., 2 (1956) 193-202.
- PAPPAS G. D., BENNETT M. V. L., *Specialized junctions involved in electrical transmission between neurons*, Ann. N. Y. Acad. Sci., 137 (1966) 495-508.
- PAPPAS G. D., WAXMAN S. G., *Synaptic fine structure - morphological correlates of chemical and electronic transmission*, [w:] *Structure and Function of Synapses*, G. D. Pappas, D. P. Purpura (eds.), Raven Press. New York 1972, s. 1-43.
- PAYTON B. W., BENNETT M. V. L., PAPPAS G. D., *Permeability and structure of junctional membranes at an electrotonic synapse*, Science, 166 (1969) 1641-1643.
- PFENNINGER K., SANDRI C., AKERT K., EUGSTER C., *Contribution to the problem of structural organization of the presynaptic area*. Brain Res., 12 (1969) 10-21.
- UCHIZONO K., *Characteristics of excitatory and inhibitory synapses in the central nervous system*, Nature 207 (1965) 642-643.
- UCHIZONO K., *Inhibitory and excitatory synapses in vertebrate and invertebrate animals*, [w:] *Structure and Function of Inhibitory Neuronal Mechanisms*, C. von Euler, S. Skoglund, U. Söderberg (eds.), Pergamon, Oxford 1968, s. 33-67.