

СТЕПЕНЬ СПЕЦИФИЧНОСТИ СИНАПТИЧЕСКИХ КОНТАКТОВ ПРИ НЕЙРОТРАНСПЛАНТАЦИИ

© 2024 г. З.Н. Журавлева*,#

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

#E-mail: zina_zhur@mail.ru

Поступила в редакцию 18.03.2024 г.

После доработки 18.03.2024 г.

Принята к публикации 19.06.2024 г.

Трансплантация незрелой нервной ткани является перспективным биотехнологическим подходом для восстановления поврежденного мозга. Успех трансплантационной терапии зависит от реализации генетической программы дифференцировки донорских нейрональных предшественников и точности нервных связей как в самих нейротрансплантатах, так и в мозге реципиента. В работе изучена степень специфичности синаптических контактов при трансплантации гиппокамповой формации в неокортекс крыс. С помощью метода электронной микроскопии показано, что в самих трансплантатах дифференцировались преимущественно специфические формы синапсов, которые топографически правильно располагались на сома-дендритной поверхности нейронов. Прорастающие в мозг реципиента аксоны трансплантированных нейронов образовывали синаптические контакты с несвойственными им в норме нейронами. При формировании неспецифических аксональных связей они модифицировали состав и распределение нейромедиаторных пузырьков в пресинаптических терминалах, а также индуцировали структурно-химическую реорганизацию в постсинаптических дендритах.

Ключевые слова: гетеротопические нейротрансплантаты, гиппокамповая формация, неокортекс, ультраструктура, синаптические контакты, специфичность.

DOI: 10.31857/S0006302924040089, EDN: NHJDKX

Известно, что центральная нервная система взрослых млекопитающих имеет очень ограниченные возможности для регенерации при нейродегенеративных заболеваниях и травмах. Это обусловлено тем, что зрелый мозг содержит преимущественно постмитотические нейроны, не способные к дальнейшему делению. Кроме того, глиальные клетки продуцируют разнообразные молекулы, ингибирующие рост аксональных отростков нейронов. Трансплантация незрелой нервной ткани или нейральных прогениторных клеток является перспективным биотехнологическим подходом для замещения погибших клеток и восстановления нарушенных функций мозга. Следует отметить, что трансплантированные нейроны дифференцируются и функционируют в необычном для себя гуморальном и тканевом микроокружении зрелого мозга. Нейробиологическая основа трансплантационной терапии заключается в способности как эмбриональных, так и зрелых клеточных элементов нервной системы к высокой морфофункциональной пластичности и возможности изменяться под воз-

действием новых факторов окружающей среды. Процесс нейропластичности имеет множественные формы и включает в себя структурные, функциональные и молекулярные механизмы [1, 2]. Важным компонентом нейропластичности является пластичность синаптических связей. Благодаря синаптической пластичности трансплантированные клетки функционально интегрируются в нервную систему реципиента. В связи с этим очень актуальным является вопрос о степени специфичности формируемых в условиях трансплантации синаптических взаимодействий, так как оптимальная работа мозга зависит от точности нейрональных связей.

Многие исследователи считают, что при трансплантации, также как в онтогенетическом синаптогенезе, существует высокая степень специфичности нервных связей и что только гомотопическая донорская ткань может обеспечить достаточное выживание трансплантированных клеток и оптимальную интеграцию с мозгом [3–5]. В то же время в других работах показано, что в нейротрансплантатах формируются не только типич-

ные для данной области мозга синаптические связи, но и атипичные функциональные контакты [6]. Мы ранее с помощью флуоресцентного трейсера продемонстрировали возможность иннервации нейронов в интраокулярных трансплантатах гиппокампа периферическими нервами, врастающими вдоль кровеносных сосудов из радужной оболочки глаза. При этом электронно-микроскопические исследования показали, как периферические волокна, выходя из периваскулярных пространств, лишались шванновских оболочек и образовывали абсолютно неспецифические синаптические контакты с дендритами и дендритными шипиками гиппокампа [7].

Целью настоящей работы была оценка степени специфичности или неспецифичности формирующихся синаптических контактов при гетеротопической трансплантации гиппокампальной формации в соматосенсорную область неокортекса. Эти отделы мозга в норме не контактируют ни анатомически, ни функционально. Специальной задачей было определение уровня воспроизведения структурной организации функциональных контактов и их отклонений от нормы в условиях трансплантации. Для этого очень подходящим субмикроскопическим объектом являются гигантские синапсы гиппокампальной формации. Они обладают уникальными ультраструктурными характеристиками и их можно идентифицировать среди других типов синапсов без дополнительной нейрохимической обработки. Используя электронную микроскопию, исследование позволяет выявить субклеточные механизмы, обеспечивающие взаимную адаптацию пре- и постсинаптических компартментов в неспецифических синаптических контактах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Опыты проведены на крысах породы Вистар, содержащихся в условиях институтского вивария. Для трансплантации использовали эмбриональные закладки гиппокампальной области мозга от 18–19-суточных плодов крыс. Самке-донору под общим нембуталовым наркозом (30–40 мг/кг веса, внутривенно) делали кесарево сечение, извлекали плод, под стереомикроскопом выделяли необходимый материал и хранили в охлажденной среде Игла. В качестве реципиентов служили крысы-самцы той же породы, которые при трансплантации в мозг также были глубоко наркотизированы нембуталом. Животных ($n = 5$) закрепляли в стереотаксическом аппарате, с помощью бормашины в черепе делали отверстие диаметром 2–3 мм над первичной соматосенсорной корой и с помощью вакуумного насоса отсасывали небольшой объем ткани мозга. В полученную ямку помещали кусочек (примерно 1 мм³) донорской эмбриональной ткани и закры-

вали кровоостанавливающей губкой. Через 4 месяца после операции животных-реципиентов снова подвергали анестезии и готовили для последующего свето- и электронно-микроскопического исследования нейротрансплантатов. Изучение цитоархитектоники нейротрансплантатов выполняли на окрашенных крезилвиолетом гистологических срезах (метод Ниссля). Для электронной микроскопии животных с интрамозговыми нейротрансплантатами подвергали транскардиальной перфузии сначала физиологическим раствором (10 мин), а затем 2.5%-м раствором глутарового альдегида на 0.1 М фосфатном буфере (30 мин). После декапитации препарировали мозг, выделяли трансплантаты с прилежащими к ним областями неокортекса, дополнительно дофиксировали погружением в тот же фиксатор (2–3 ч) и обрабатывали 1.0%-м раствором четырехоксида осмия. Дальнейшую обработку материала, обезвоживание в серии спиртов и абсолютном ацетоне, а также заливку в эпоксидную смолу Эпон 812 проводили по стандартной методике. Ориентацию блоков и выбор участков для детального изучения осуществляли на полутонких срезах, окрашенных смесью метиленовой сини и буры. Ультратонкие срезы, полученные на ультратоме фирмы LKB (Швеция), контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца и исследовали в электронном микроскопе JEM-100B (JEOL, Япония).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Цитоархитектоника и синаптическая организация нейротрансплантатов гиппокампальной формации. При предварительном визуальном и гистологическом анализе неокортикальные трансплантаты гиппокампальной формации были обнаружены у всех оперированных животных. Трансплантаты обычно заполняли всю операционную ямку и немного возвышались над поверхностью мозга реципиента (рис. 1а). На гистологических срезах хорошо распознавались области, занятые трансплантированной тканью и неокортексом реципиента, а также граница между ними. В интерфазе обнаруживались области полного слияния тканей и участки, где трансплантаты и мозг были разделены глиальным рубцом. Внутри трансплантатов четко идентифицировались нейроны и глиальные клетки. Цитоархитектоническая организация различалась в разных трансплантатах: в некоторых образцах нейроны были распределены хаотично, в других — наблюдались большие участки, занятые характерными для гиппокампальной формации *in situ* клеточными слоями пирамидных и гранулярных нейронов (рис. 1б).

Ультраструктура нейронов и синаптических окончаний в трансплантатах визуально соответствовала аналогичным электронно-микроскопи-

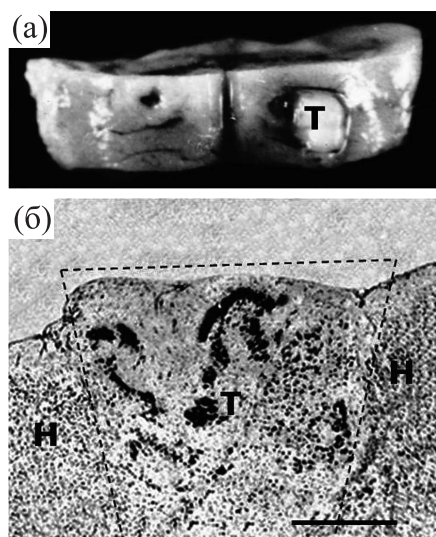


Рис. 1. Гетеротопический трансплантат гиппокамповой формации в соматосенсорной области неокортекса крысы (4 мес. после операции): (а) — общий вид нейротрансплантата (Т); (б) — гистологический срез (окраска по Нисслю) через трансплантат (Т) и соседний неокортекс мозга реципиента (Н). Область трансплантата обозначена пунктирной линией. Масштаб 1.0 мм.

ческим изображениям в зрелом мозге. Большинство из них имели классические формы и размеры от 0.5–0.8 мкм до 1.0 мкм в диаметре. Важно, что распределение функционально разных синапсов по сома-дендритной поверхности нейронов имело достаточно высокую степень специфичности. Как и в гиппокамповой формации *in situ*, тормозные синаптические контакты, имеющие симметричные активные зоны, локализовались на поверхности перикарионов нейронов или стволов дендритов, а возбуждающие синапсы, характеризующиеся асимметричными активными зонами, располагались на дендритных шипиках (рис. 2). По-видимому, это обусловлено тем, что донорские нейрональные предшественники на 18–19 сутки эмбрионального развития, помещенные в среду зрелого мозга реципиента, реализуют свою генетически детерминированную программу дифференцировки в определенные типы синапсов. Известно, что пре- и постсинаптические белковые комплексы существуют в нейронах задолго до формирования истинных синаптических контактов. От молекулярного состава этих белковых комплексов зависит возбуждающий или тормозной характер зарождающихся синапсов [8, 9]. В то же время в данной экспериментальной ситуации предположение о высокой специфичности синаптических контактов внутри трансплантированной нервной ткани может быть в полной мере справедливо только для тормозных аксональных систем трансплантатов. Несмотря

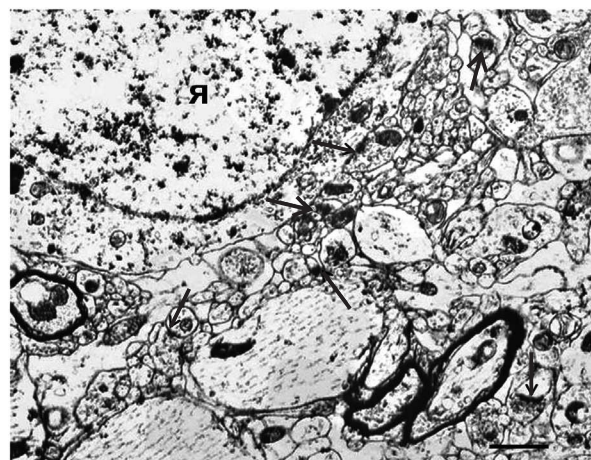


Рис. 2. Ультраструктура нейротрансплантата гиппокамповой формации. Я — ядро гранулярного нейрона; стрелки указывают на синаптические контакты. Масштаб 1.0 мкм.

на воспроизведение структурных особенностей аксо-шипиковых синаптических контактов, их функциональная специфичность не так однозначна. Не исключено, что многие аксо-шипиковые возбуждающие синапсы в трансплантатах формируются с несвойственными им в норме нейронами, т.к. в гиппокампе *in situ* на дендритных шипиках заканчиваются внешние эфферентные аксональные системы [10, 11]. Возможно, что в процессе дальнейшего развития нейротрансплантатов часть таких неспецифических синаптических контактов устраняется или замещается при подрастании более функционально адекватных аксонов. Действительно, ранее мы показали, что трансплантированная ткань в течение длительного времени после операции продолжает реорганизацию нейрональных сетей и сохраняет нестабильное морфофункциональное состояние [12].

Среди синапсов классической формы и размеров (0.5–1.0 мкм) в нейротрансплантатах гиппокамповой формации выделялись гигантские синаптические окончания, образованные аксонами гранулярных нейронов зубчатой фасции. Эти уникальные синаптические комплексы идентифицировали благодаря известным данным литературы об их больших аксональных терминалях и сложной ультраструктурной организации синаптического аппарата [13, 14]. В мозге *in situ* аксоны гранулярных нейронов (так называемые мшистые волокна) собираются в пучки, следуют к проксимальным отделам апикальных дендритов пирамидных нейронов поля СА3 и последовательно образуют с ними функциональные синаптические комплексы, формируя отдельный слой (*str. lucidum*) гиппокампа.

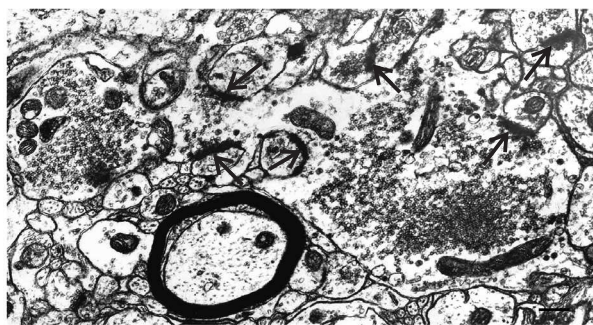


Рис. 3. Гигантская синаптическая терминаль сложной конфигурации в нейротрансплантате; стрелки указывают на синаптические активные зоны с головками дендритных шипиков. Масштаб 0.5 мкм.

Внутри нейротрансплантатов аксональные терминалы мшистых волокон, как и в гиппокампе *in situ*, достигали 3–5 мкм в поперечнике. Гигантские бутоны содержали характерный для них в норме набор синаптических везикул. В основном они были заполнены малыми светлыми пузырьками (30–40 нм в диаметре), которые образовывали выраженные скопления около активных зон. Большие (80–120 нм) электронно-плотные везикулы наблюдались значительно реже и, как правило, располагались экстрасинаптически. Из литературы известно, что основным трансммитером гигантских синапсов является глутамат, содержащийся в малых везикулах, а в больших электронно-плотных пузырьках хранятся нейропептидные ко-трансммитеры, которые модулируют синаптическую передачу [15]. Гигантские синапсы в нейротрансплантатах воспроизводили характерный для них в норме интратерминальный способ формирования множественных синаптических активных зон с дендритными шипиками. Однако многие из контактирующих дендритных шипиков были только частично инвагинированы в пресинаптическую терминаль (рис. 3). Аксо-шипиковые активные зоны имели асимметричный вид из-за выраженных постсинаптических уплотнений и по общепринятой классификации соответствовали химическим возбуждающим контактам.

Как и в гиппокамповой формации *in situ*, терминальные бутоны мшистых волокон помимо синаптических активных зон дифференцировали другой тип мембранных специализаций — симметричные адгезивные соединения с поверхностью стволов дендритов. От активных зон их отличало то, что со стороны пресинапса около них всегда отсутствовали синаптические везикулы. Таким образом, субмикроскопический анализ гигантских синаптических окончаний аксонов гранулярных нейронов в неокортикальных трансплантатах гиппокамповой формации показал, что они в высокой степени воспроизводили

свои детерминантные ультраструктурные признаки. Однако следует отметить, что в трансплантированной донорской ткани изначально присутствовала естественная (адекватная) постсинаптическая мишень мшистых волокон (пирамидные нейроны гиппокампа), и для них сохранялась возможность формировать синаптические контакты на специфических постсинаптических мишенях. Поэтому изучение способности мшистых волокон иннервировать несвойственные им в норме нейрональные элементы выполняли при микроскопии соседнего с нейротрансплантатами неокортекса.

Ультраструктурный анализ возможности неспецифических синаптических взаимодействий между гранулярными нейронами гиппокамповой формации и несвойственными им в норме постсинаптическими мишенями в неокортексе. Границу между нейротрансплантатами и мозгом реципиента идентифицировали светомикроскопически на полутонких срезах и на разных уровнях подвергали ультраструктурному исследованию с целью обнаружения прорастающих через нее отростков нервных и глиальных клеток. В участках интерфейса, где наблюдалось полное слияние нейропилей трансплантата и неокортекса, определить принадлежность отростков нервных клеток к той или другой области не представлялось возможным. Однако в областях с четко выраженным глиальным окружением транспантированной ткани встречались поперечные и продольные пучки аксонов и дендритов, которые следовали между трансплантатами и соседним неокортексом. В таких пучках всегда наблюдались отростки фиброзных астроцитов и группы плотно сгруппированных тонких (0.08–0.10 мкм в диаметре) немиелинизированных аксонов, морфологически аналогичных мшистым волокнам гиппокамповой формации (рис. 4). Присутствие астроцитарных отростков в составе прорастающих аксонов и дендритов предполагает, что они участвовали в ориентации нервных волокон и в афферентно-эфферентных взаимодействиях нейротрансплантатов с мозгом реципиента. Известно, что в процессе естественного развития головного мозга млекопитающих глиальные клетки и их отростки служат направляющим субстратом для организации функциональных связей [16].

Исследование соседнего с нейротрансплантатами соматосенсорного неокортекса реципиента было проведено с целью поиска гигантских синаптических терминалей, контактирующих с неспецифическими нейрональными мишенями. Наблюдаемые в неокортексе синаптические окончания, отвечающие по размерам и другим морфологическим признакам гигантским синапсам гиппокамповой формации, часто были сгруппированы вокруг некоторых перикарионов и крупных денд-

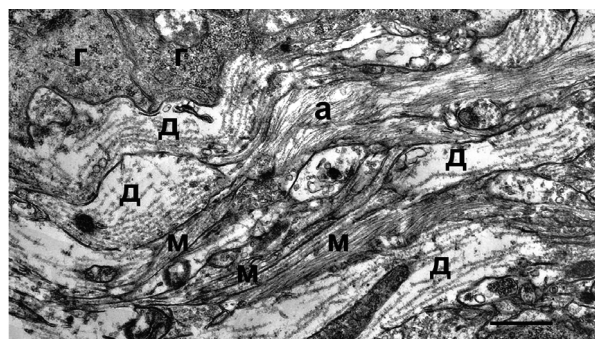


Рис. 4. Пучок нервных волокон, проникающий через границу между нейротрансплантатом и мозгом реципиента: а — астроцитарные отростки, г — глиальные клетки на границе между трансплантатом и мозгом, д — дендриты, м — мшистые волокна. Масштаб 1.0 мкм.



Рис. 5. Группа гигантских терминалей мшистых волокон (гт), образующих неспецифические синаптические контакты с дендритными шипиками (указаны стрелками) и адгезивные соединения типа *puncta adherentia* (звездочки) с поверхностью дендрита; м — пресинаптические митохондрии. Масштаб 0.5 мкм.

ритных стволов. Казалось, что отдельные гигантские профили являются последовательными расширениями одного и того же мшистого волокна (рис. 5). По везикулярному составу aberrantные терминали не отличались от таковых в самих нейротрансплантатах и содержали тот же набор синаптических и пептидергических везикул. Однако при детальном рассмотрении было отмечено, что в контактах с неспецифическими нейрональными мишенями около активных зон часто концентрировались не только малые синаптические везикулы, но и большие пузырьки с электронно-плотной сердцевиной. Это перераспределение пептид-содержащих везикул из экстраинаптических локусов к активным зонам в неспецифических синаптических контактах свидетельствует об участии нейропептидных механизмов в адаптации пре- и постсинаптических партнеров друг к другу.

При формировании активных зон гигантские терминали, так же как внутри самих нейротрансплантатов, использовали дендритные шипики. Однако в этом случае дендриты и их выросты принадлежали пирамидным нейронам неокортекса. Большинство дендритных шипиков морфологически не отличалось от классических грибовидных форм. Они были заполнены волокнисто-зернистым содержимым и некоторые из них содержали шипиковый аппарат. В то же время у части шипиков были разветвленные головки, а поперечные срезы через них имели сложные конфигурации. Такая форма шипиков не типична для пирамидных нейронов неокортекса, но характерна для постсинаптических дендритов в зоне окончаний мшистых волокон в гиппокампе *in situ*. В некоторых дендритных выростах присут-

ствовали рибосомы, полисомы и цистерны эндоплазматического ретикулама. Из данных литературы известно, что появление в шипиках органелл, ответственных за биосинтез белка, свидетельствует об их пластической нейрохимической реорганизации [17]. По-видимому, подрастающие из нейротрансплантатов мшистые волокна запускают синтетические процессы и индуцируют образование более подходящих для себя постсинаптических микроструктур.

Аберрантные терминальные гигантские бутоны в неокортексе, несмотря на образование синаптических контактов с несвойственными им нейрональными мишенями, воспроизводили характерные для этого типа синапсов адгезивные соединения *puncta adherentia* с мембраной стволов дендритов. От активных зон их отличало то, что со стороны пресинапса около них всегда отсутствовали синаптические везикулы, но концентрировались митохондрии. Такая форма симметричных адгезивных комплексов является уникальной для гигантских синапсов гиппокампа и имеет специальное название *puncta adherentia* [13]. Если для пресинаптических компартментов гигантских синапсов в неокортексе, принадлежащих донорским гранулярным клеткам, такие скопления адгезивных молекул являлись типичными, то формирование симметричных скоплений со стороны неокортикальных дендритов было индуцировано подрастающими из трансплантатов аксонами. Часто концентрация адгезионных комплексов *puncta adherentia* наблюдалась в местах отрастания дендритных выростов, что предполагает их участие в генезе дополнительных дендритных шипиков и эктопических аксо-шипиковых активных зон.

Ранее предполагали, что адгезивные контакты в гигантских синапсах гиппокамповой формации выполняют исключительно механическую функцию и служат для прикрепления большой терминали к постсинаптическому дендриту [13]. В настоящее время определен сложный нейрхимический состав *puncta adherentia*, свидетельствующий об их вовлеченности в координацию структурных и функциональных процессов в синапсах. В них найдена синаптическая адгезионная молекула S-SCAM, обычно входящая в состав незрелых синаптических контактов мшистых волокон и участвующая в рекрутировании из цитоплазмы глутаматных рецепторов [18, 19]. В организацию *puncta adherentia* входят также кадгерин-катениновая и нектин-афудиновая адгезивные системы, которые также играют ключевые роли в развитии и пластической реорганизации нервной системы [20, 21]. При формировании неспецифических функциональных связей при гетеротопической нейротрансплантации симметричные адгезионные контакты могут обеспечивать трансмембранную координацию и участвовать во взаимной структурно-химической интеграции чужеродных синаптических партнеров. При этом доминирующая роль в иницировании данных процессов принадлежит пресинаптическим компонентам аксонов донорских гранулярных клеток, что согласуется с положениями других авторов [22, 23]. Итак, сравнительное исследование гигантских синапсов мшистых волокон, проникающих из трансплантатов гиппокамповой формации в мозг реципиента, показало сохранение их детерминантной структурной организации при контактах с несвойственными им нейрональными мишенями.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного ультраструктурного анализа синаптической организации в гетеротопических нейротрансплантатах гиппокамповой формации, развивающихся в течение 4 месяцев в соматосенсорной области неокортекса крыс, показали, что трансплантированные нейроны образуют как специфические, так и неспецифические синаптические связи. Однако степень структурно-функциональной специфичности синаптических контактов, сформированных в самой трансплантированной ткани и в соседнем неокортексе, существенно различалась. Процесс синаптогенеза в трансплантатах носил преимущественно специфический характер, что, по-видимому, объясняется высоким уровнем коммитированности донорских эмбриональных клеток. Это было выра-

жено в дифференцировке характерных для гиппокамповой формации типов синаптических активных зон и топографически правильном расположении тормозных, возбуждающих и гигантских синапсов на сома-дендритной поверхности нейронов.

В мозге реципиента вопрос о степени специфичности аксональных связей, проецирующихся из трансплантатов гиппокамповой формации, был изучен на системе мшистых волокон гранулярных нейронов и их гигантских синаптических окончаниях. Показано, что они проникают через интерфазу «трансплантат–мозг» и формируют синаптические контакты с несвойственными им в норме нейронами неокортекса. При этом синаптические терминали сохраняют свои детерминантные структурные характеристики, но модифицируют нейротрансмиссивный паттерн, перераспределяя нейропептидные гранулы к активным зонам. В постсинаптических дендритах неокортекса они индуцируют образование дополнительных дендритных шипиков и специфических для гигантских синапсов адгезивных контактов типа *puncta adherentia*.

Таким образом, нейрональные предшественники в условиях гетеротопической нейротрансплантации при отсутствии адекватных постсинаптических нейронов-мишеней способны адаптировать свой синаптический аппарат и формировать неспецифические функциональные связи.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена на оборудовании ЦКП ПНЦБИ РАН (№ 670266).

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование проведено в рамках выполнения государственного задания Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН № 075-00224-24-01.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все процедуры соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципами Базельской декларации и рекомендациями биоэтического комитета Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН, протокол № 20/2023 от 08 февраля 2023г.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Citri A. and Malenka R. C. Synaptic plasticity: multiple forms, functions, and mechanisms. *Neuropsychopharmacology*, **33** (1), 18–41 (2008). DOI: 10.1038/sj.npp.1301559
2. Gulyeva N. V. Molecular mechanisms of neuroplasticity: an expanding universe. *Biochemistry (Moscow)*, **82** (3), 237–242 (2017). DOI: 10.1134/S0006297917030014
3. Zaman V. and Shetty A. K. Fetal hippocampal CA3 cell grafts enriched with fibroblast growth factor-2 exhibit enhanced neuronal integration into the lesioned aging rat hippocampus in a kainate model of temporal lobe epilepsy. *Hippocampus*, **13** (5), 618–632 (2003). DOI: 10.1002/hipo.10091
4. Cardoso T., Adler A. F., Mattsson B., Hoban D. B., Nolbrant S., Wahlestedt J. N., Kirkeby A., Grealish S., Bjorklund A., and Parmar M. Target-specific forebrain projections and appropriate synaptic inputs of hESC-derived dopamine neurons grafted to the midbrain of parkinsonian rats. *J. Comp. Neurol.*, **526**, 2133–2146 (2018). DOI: 10.1002/cne.24500
5. Droguerre M., Brot S., Vitrac C., Benoit-Marand M., Belnoue L., Patrigeon M., Lainé A., Béré E., Jaber M., and Gaillard A. Better outcomes with intranigral versus intrastratial cell transplantation: relevance for Parkinson's disease. *Cells*, **11**, 1191–1224 (2022). DOI: 10.3390/cells11071191
6. Magavi S. S. P. and Lois C. Transplanted neurons form both normal and ectopic projections in the adult brain. *Dev. Neurobiol.*, **68** (14), 1527–1537 (2008). DOI: 10.1002/dneu.20677
7. Zhuravleva Z. N., Mugantseva E. A. and Zhuravlev G. I. Microscopic study of nervous system plasticity: Interactions of sympathetic nerves with neurons of intraocular hippocampal transplants. *Bull. Exp. Biol. Med.*, **164** (5), 680–684 (2018). DOI: 10.1007/S10517-018-4058-1
8. Gerrow K., Romorini S., Nabi S. M., Colicos M. A., Sala C., and El-Husseini A. A preformed complex of postsynaptic proteins is involved in excitatory synapse development. *Neuron*, **49** (4), 547–562 (2006). DOI: 10.1016/j.neuron.2006.01.015
9. Colón-Ramos D. A. Synapse formation in developing neural circuits. *Curr. Top. Dev. Biol.*, **87**, 53–79 (2009). DOI: 10.1016/S0070-2153(09)01202-2
10. Косицын Н. С. *Микроструктура дендритов и аксодендритических связей ЦНС* (Наука, М., 1976).
11. Vinogradova O. S. Hippocampus as comparator: role of the two input and two output systems of the hippocampus in selection and registration of information. *Hippocampus*, **11** (5), 578–598 (2001). DOI: 10.1002/hipo.1073
12. Zhuravleva Z. N. Ultrastructural signs of regenerative-degenerative processes in long-term dentate fascia grafts. *J. Neural Transpl. Plast.*, **5** (3), 183–197 (1994). DOI: 10.1155/NP.1994.183
13. Hamlyn L. H. The fine structure of the mossy fibre endings in the hippocampus of the rabbit. *J. Anat. (Lond.)*, **96** (1), 112–120 (1962). PMID: 13904141
14. Rollenhagen A., Sätzler K., Rodríguez E. P., Jonas P., Frotscher M., and Lübke J. H. R. Structural determinants of transmission at large hippocampal mossy fiber synapses. *J. Neurosci.*, **27** (39), 10434–10444 (2007). DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1946-07.2007
15. Henze D. A., Urban N. N., and Barrionuevo G. The multifarious hippocampal mossy fiber pathway: A review. *Neurosci.*, **98** (3), 407–427 (2000). DOI: 10.1016/S0306-4522(00)00146-9
16. Colón-Ramos D. A. and Shen K. Cellular conductors: Glial cells as guideposts during neural circuit development. *PLoS. Biol.*, **6** (4), e112 (2008). DOI: 10.1371/journal.pbio.0060112
17. Sun C., Nold A., Fusco C. M., Rangaraju V., Tchumachenko T., Heilemann M., and Schuman E. M. The prevalence and specificity of local protein synthesis during neuronal synaptic plasticity. *Sci. Adv.*, **7** (38):eabj0790 (2021). DOI: doi: 10.1126/sciadv.abj0790
18. Yamada A., Irie K., Deguchi-Tawarada M., Ohtsuka T., and Takai Y. Nectin-dependent localization of synaptic scaffolding molecule (S-SCAM) at the puncta adherentia junctions formed between the mossy fiber terminals and the dendrites of pyramidal cells in the CA3 area of the mouse hippocampus. *Genes Cells*, **8** (12), 985–994 (2003). DOI: 10.1046/j.1356-9597.2003.00690.x
19. Hoy J. L., Constable J. R., Vicini S., Fu Z., and Washbourne P. SynCAM1 recruits NMDA receptors via Protein 4.1B. *Mol. Cell. Neurosci.*, **42** (4), 466–483 (2009). DOI: 10.1016/j.mcn.2009.09.010
20. Mizoguchi A., Nakanishi H., Kimura K., Matsubara K., Ozaki-Kuroda K., Katata T., Honda T., Kiyohara Y., Heo K., Higashi M., Tsutsumi T., Sonoda S., Ide C., and Takai Y. Nectin: an adhesion molecule involved in formation of synapses. *J. Cell. Biol.*, **156** (3), 555–565 (2002). DOI: 10.1083/jcb.200103113
21. Iida J., Hirabayashi S., Sato Y., and Hata Y. Synaptic scaffolding molecule is involved in the synaptic clustering of neuroligin. *Mol. Cell. Neurosci.*, **27** (4), 497–508 (2004). DOI: 10.1016/j.mcn.2004.08.006
22. Falkner S., Grade S., Dimou L., Conzelmann K. K., Bonhoeffer T., Götz M., and Hübener M. Transplanted embryonic neurons integrate into adult neocortical circuits. *Nature*, **539**, 248–253 (2016). DOI: 10.1038/nature20113
23. Shetty A. K., Zaman V. and Turner D. A. Pattern of long-distance projections from fetal hippocampal field CA3 and CA1 cell grafts in lesioned CA3 of adult hippocampus follows intrinsic character of respective donor cells. *Neurosci.*, **99** (2), 243–255 (2000). DOI: 10.1016/S0306-4522(00)00178-0

Degree of Specificity of the Synaptic Contacts during Neurotransplantation

Z.N. Zhuravleva*

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

Transplantation of immature neural tissue is a promising biotechnological approach for restoring damaged brain circuitry. The success of transplantation therapy depends on implementation of the genetic program of differentiation of donor neural progenitors and the accuracy of neural connections both in the grafts themselves and in the recipient's brain. The aim of this work was to study the degree of specificity of synaptic connections during transplantation of the hippocampal formation into the neocortex of rats. Electron microscopy was used in this study, and after analysis of the obtained images it was found that specific forms of synapses, which were topographically correctly located on the neuronal soma-dendritic surface, were predominantly differentiated in the grafts. The axons of the grafted neurons growing into the recipient's brain formed synaptic connections with neurons that were unusual for them normally. During the formation of nonspecific axonal connections, they modified the composition and distribution of neurotransmitter vesicles in presynaptic terminals, and also induced structural and chemical reorganization in postsynaptic dendrites.

Keywords: heterotopic neurotransplants, hippocampal formation, neocortex, ultrastructure, synaptic contacts, specificity