

## ЦИКЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРЫ ЭДОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РЕТИКУЛУМА И АППАРАТА ГОЛЬДЖИ НЕЙРОНОВ ГИППОКАМПА СУСЛИКОВ ВО ВРЕМЯ ЗИМНЕЙ СПЯЧКИ

© Л. С. Бочарова,<sup>1</sup> Р. Я. Гордон,<sup>2,\*</sup> В. В. Рогачевский,<sup>2</sup> Д. А. Игнатъев,<sup>2</sup> С. С. Хуцян<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН

и <sup>2</sup> Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Московская обл.;

\* электронный адрес: ritagordon@mail.ru

Зимняя спячка сусликов протекает в виде чередования периодов холодного оцепенения и коротких эпизодов разогрева животных. Ранее нами показано, что в сезон спячки в пирамидных нейронах поля СА3 гиппокампа повторяются распад рибосом во время оцепенения и образование новых при каждом разогреве сусликов. В настоящей работе описаны циклические изменения структуры эндоплазматического ретикулума (ЭР) и аппарата Гольджи (АГ) в этих клетках. Оцепенение сопровождается исчезновением телец Ниссля и большинства протяженных цистерн шероховатого ЭР; АГ утрачивает плоские цистерны и распадается на везикулы. Появление при входе в оцепенение множества аутофагосом с фрагментами мембранных структур и рибосомами отражает их частичную деградацию. Сборка гранулярного ЭР в пирамидах СА3 начинается уже в середине периодов оцепенения на основе мультиламеллярных мембранных структур, тогда как плоские цистерны АГ вновь появляются только при разогреве сусликов. У разбуженных сусликов структура и ЭР, и АГ полностью восстанавливается в течение 2–3 ч разогрева. Пример спячки сусликов показывает, что адаптация нейронов к резким изменениям уровня активности сопряжена с распадом и частичной заменой рибосом и ЭР. Возможно, их быстрое обновление в конце периодов оцепенения осуществляется в форме сборки из частично переваренных в аутофаголизосомах фрагментов.

**Ключевые слова:** сборка эндоплазматического ретикулума, аппарат Гольджи, рибосомы, аутофагия, нейроны, зимняя спячка.

**Принятые сокращения:** АГ — аппарат Гольджи, АФ — аутофагосома, ЛФ-гранулы — липофусциновые гранулы,  $T_m$  — температура мозга, ЭР — эндоплазматический ретикулум.

Мембранные структуры в цитоплазме постоянно меняют свою форму и обновляются, адаптируясь к внешним воздействиям. Структурные изменения ЭР и АГ, которыми сопровождаются деление, рост и дифференцировка клеток, неплохо изучены (Pannese, 1968; Powell, Latterich, 2000; Voeltz et al., 2002; Семакова, Киселева, 2003; Fedorovich et al., 2005; Снигиревская и др., 2006; Puhka et al., 2007), влияние на них различных нарушений метаболизма — тоже (Pathak et al., 1986; Del Valle et al., 1999; Bejano et al., 2006; Borgese et al., 2006; Landhans et al., 2007). Гораздо меньше ясности в вопросе о том, насколько структура эндоплазматического ретикулума (ЭР) и аппарата Гольджи (АГ) зависит от уровня функциональной активности клеток. Так, известно, что электрическая стимуляция нейронов приводит к выраженной пролиферации шероховатого ЭР (Bocharova et al., 1972), но как сказывается на структуре ЭР и АГ снижение уровня активности, неясно.

Зимняя спячка сусликов — удачная модель для изучения функционально обусловленных изменений в нервных клетках. У этих животных в сезон спячки периоды (бауты) холодного оцепенения чередуются с краткими эпизодами спонтанного разогрева до 36 °С. За сезон спячки

суслики проходят до 20–25 циклов оцепенение-разогрев (Van Breukelen, Martin, 2002; Carey et al., 2003; Drew et al., 2007). Во время оцепенения спайковая активность нервных клеток большинства структур мозга прекращается, восстанавливаясь между баутами (Штарк, 1970; Heller, 1979; Krilowicz et al., 1988; Drew et al., 2007). В сезон спячки нейроны в мозге сусликов многократно переходят от состояния глубокого торможения к активности. В пирамидных нейронах гиппокампа эти переходы сопровождаются большими изменениями объема клеток, количества и синтетической активности рибосом, интенсивности синтеза РНК, а также дендритов и синаптических контактов (Bocharova et al., 1992a, 1992b; Popov, Bocharova, 1992; Popov et al., 1992; Gordon et al., 1997; Гордон и др., 2006).

Целью данного исследования было изучение структуры ЭР и АГ в нейронах гиппокампа сусликов в цикле оцепенение—разогрев. Показано, что в пирамидах поля СА3 вход в оцепенение сопровождается выраженной трансформацией структуры и редукцией ЭР и АГ параллельно с увеличением числа аутофагосом (АФ), содержащих фрагменты мембранных структур и рибосомы. Признаки образования нового ЭР из мультиламеллярных мембран-

ных структур видны уже в середине баута оцепенения, а цистерны АГ вновь появляются только после разогрева животных. Структура и ЭР, и АГ у разбужденных сусликов полностью восстанавливается в течение 2 ч.

### Материал и методика

**Животные.** Сусликов *Citellus undulatus*, отловленных летом в Якутии, содержали в виварии. В опытах использовали животных обоего пола массой 500—800 г. В зимний период сусликов помещали в индивидуальные деревянные боксы размером 15×15×20 см и содержали в темноте в звукоизолированной холодильной камере при оптимальной для спячки температуре (1—3 °С). В подстилку гнезд были вмонтированы термодатчики, позволявшие следить за состоянием животных. Во время оцепенения сусликов температура в гнезде соответствовала температуре в камере, а при пробуждении поднималась до 12—14 °С. Непосредственно перед декапитацией состояние сусликов оценивали по температуре мозга и частоте сердцебиений. Температуру мозга измеряли датчиком оригинальной конструкции (с диаметром 1 мм, длиной 10 мм и точностью измерения 0.2 °С), изготовленным в СКБ БП г. Пущино, который помещали в наружный слуховой проход у барабанной перепонки.

Длительность баутов оцепенения варьирует от нескольких суток в начале и конце сезона спячки до 2 нед в середине. Спонтанный разогрев сусликов до 36 °С происходит в течение 2—3 ч, длительность периодов нормотермии — до 1.5 сут. Между баутами оцепенения суслики просыпаются, однако они не питаются и остаются малоактивными. Выход сусликов из оцепенения можно спровоцировать в любой точке баута различными стимулами. В настоящей работе, чтобы вызвать пробуждение, сусликов переносили в теплое помещение, где через 2—3 ч они просыпались.

Сусликов брали в январе—феврале на разных стадиях цикла оцепенение—разогрев: в начале охлаждения ( $T_m \approx 23$  °С); в середине баута оцепенения ( $T_m \approx 4$  °С); сразу после спровоцированного разогрева ( $T_m \approx 23$  °С); через 2—3 ч после пробуждения от начала спровоцированного разогрева ( $T_m \approx 36$  °С); при нормотермии между баутами ( $T_m \approx 36$  °С). В качестве контроля использовали летних сусликов. Для каждого состояния анализировали мозг 3 животных.

**Электронная микроскопия.** Исследование ультраструктуры пирамидных нейронов поля СА3 гиппокампа проводили по общепринятой методике: после декапитации животных извлекали мозг и фиксировали его в 2.5%-ном растворе глутаральдегида, приготовленном на 0.1 М какодилатном буферном растворе (pH 7.2—7.4), с последующими постфиксацией в 1%-ном растворе четырехоксида осмия на том же буфере, обезвоживанием и заключением в эпон—аралдит. Ультратонкие срезы окрашивали уранил-ацетатом и цитратом свинца. Подсчет длины профилей ЭР осуществляли на отсканированных микрофотографиях различных областей цитоплазмы нейронов гиппокампа поля СА3 в компьютерной программе Photoshop. Данные приведены в виде средних значений и их стандартных отклонений. Достоверность различий средних значений оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента.

### Результаты

Ультраструктура цитоплазмы пирамидных нейронов поля СА3 гиппокампа сусликов между баутами оцепенения и летних животных практически не различается: доминируют структуры шероховатого ЭР, образующие тельца Ниссля, полирибосомы и АГ (рис. 1, а). Это признаки активного синтеза мембранных и экспортируемых из сомы нейрона белков. При охлаждении сусликов картина разительно меняется уже при  $T_m \approx 23$  °С. Большое число телец Ниссля исчезает, заметно уменьшается количество полирибосом. Цистерн шероховатого ЭР в цитоплазме мало и они короткие, более выраженным становится гладкий ЭР (рис. 1, б). В состоянии оцепенения заметно снижается наполнение цитоплазмы структурами, особенно ЭР и АГ, почти нет полирибосом (рис. 1, в), но появляется много мелких везикул (рис. 2, з), АФ и крупных липофусциновых гранул (рис. 1, в). Всего за 2 ч от начала разогрева восстанавливается структура цитоплазмы нейронов: снова появляются шероховатый ЭР, тельца Ниссля и развитый АГ, рибосомы объединяются в полисомы (рис. 1, з). С началом очередного баута оцепенения цикл реорганизации структур в цитоплазме нейронов повторяется.

Трансформация ЭР нервных клеток холодных сусликов состоит прежде всего в уменьшении длины профилей плоских цистерн, покрытых рибосомами (рис. 1; 3, б). Если в нейронах теплых сусликов средняя протяженность профиля ЭР на срезе составляет  $1.3 \pm 0.8$  мкм, то в середине баута оцепенения —  $0.3 \pm 0.1$  мкм. У сусликов с начала охлаждения и во время оцепенения инактивирован фактор инициации синтеза белка (Frerichs et al., 1998; Carey et al., 2003). Поэтому рибосомы не связываются с ЭР, что может быть главной причиной изменения его формы с преимущественно плоской на тубулярную.

Редукция АГ — характерная черта нейронов холодных сусликов. Между баутами АГ имеет классическую структуру. Хорошо выражены *цис*-, *медиа*- и *транс*-цистерны, везикуло-тубулярный компартмент, транспортные везикулы (рис. 2, а; 3, в). Во время оцепенения АГ распадается на везикулы, а стопок плоских цистерн, диктиосом практически нет. Остатки АГ представлены отдельными крупными светлыми везикулами (0.10—0.25 мкм) в окружении множества разнообразных мелких (0.03—0.06 мкм) пузырьков (рис. 1, в; 2, в, з; 3, з). Редукция диктиосом АГ в пирамидах СА3 видна уже при  $T_m 23$  °С (рис. 2, б). Цистерны АГ, прежде всего из *цис*- и *медиа*льных слоев, набухают и распадаются на отдельные крупные фрагменты (рис. 2, б; 3, з). Размерами, а также отсутствием электронно-плотного содержимого большие везикулы напоминают концевые расширения цистерн АГ в клетках активных животных (рис. 1, а; 2, а; 3, в). Соседние большие везикулы бывают соединены короткими мостиками из остатков плоских цистерн, образуя структуры типа гантелей (рис. 2, б, вставка). Известно, что АГ распадается на везикулы при прекращении синтеза и транспорта новых белков из ЭР (Altan-Bonnet, Lippincott, 2005; Persico et al., 2009). Такие же последствия имеют дефицит АТФ (Del Valle et al., 1999) и подавление активности протеинкиназы А (Bejarano et al., 2006). Изменение формы АГ в нейронах явно вызвано его дисфункцией во время оцепенения.

Частичное разрушение ЭР и АГ возможно. В период оцепенения объем цитоплазмы пирамид СА3 на

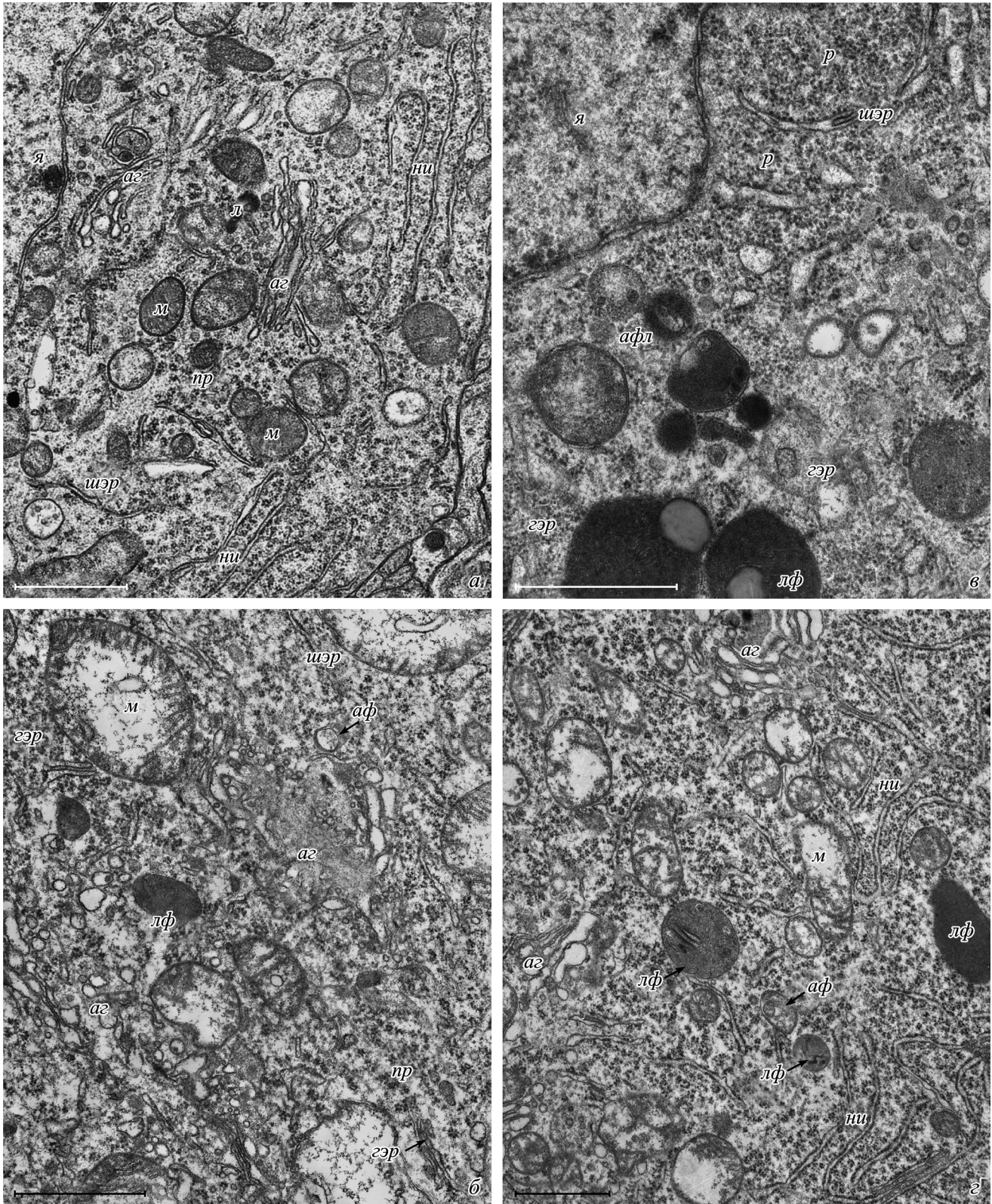


Рис. 1. Общий вид цитоплазмы пирамидных нейронов поля СА3 гиппокампа сусликов в разные фазы цикла оцепенение—разогрев.

*а* — нормотермия между баутами оцепенения ( $T_m$  37 °С); *б* — начало охлаждения ( $T_m$  23 °С); *в* — состояние оцепенения ( $T_m$  4 °С); *г* — 2 ч от начала спровоцированного разогрева ( $T_m$  36 °С). *аф* — аутофагосома, *афл* — аутофаголизосомы, *аг* — аппарат Гольджи, *л* — лизосома, *лф* — липофуциновая гранула, *м* — митохондрия, *ни* — вещество Ниссля, *пр* — полирибосомы, *р* — рибосомы, *гэр* — гладкий эндоплазматический ретикулум, *шэр* — шероховатый эндоплазматический ретикулум, *я* — ядро. Масштабные отрезки — 1 мкм.

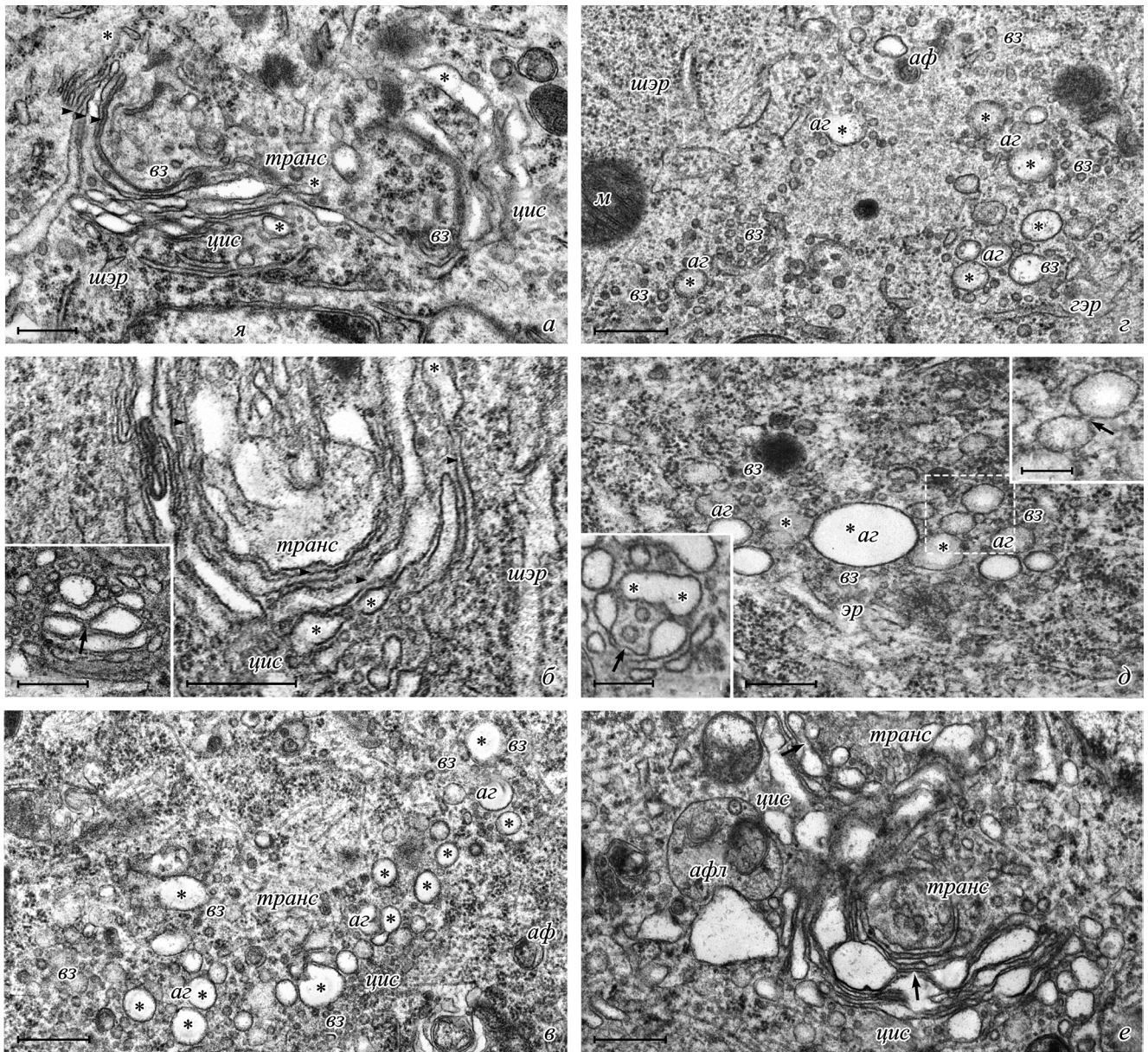


Рис. 2. Редукция аппарата Гольджи (АГ) в пирамидных нейронах поля СА3 гиппокампа при снижении температуры и восстановление структуры АГ у разогревающихся сусликов.

*a* — АГ между баутами оцепенения ( $T_m$  37 °С); *б* — в начале охлаждения ( $T_m$  23 °С); *в* — в начале ( $T_m$  4 °С); *г* — в середине баута оцепенения ( $T_m$  4 °С); *д, е* — в процессе разогрева ( $T_m$  13 и 23 °С соответственно). Обозначения те же, что и на рис. 1 и 3. Плоские цистерны АГ (*a, б, головки стрелок*), концевые расширения цистерн АГ (*a, б, звездочки*); гантелеподобные структуры при редукции (*б, вставка, стрелка*) и формировании цистерн между крупными везикулами (*д, е вставки*). Масштабные отрезки — 0.5 и 0.25 мкм (*д, вставки*).

30—50 % меньше, чем между баутами (Bocharova et al., 1992b), к тому же она заметно меньше заполнена мембранными структурами (рис. 1, *в*; 2, *в*; 3, *б, г*). При этом клетки теряют до 40 % рРНК (Bocharova et al., 1992b). У холодных сусликов значительно снижается и содержание белка в нервных клетках (Головина, 1988; Демин и др., 1988). Эти факты говорят об активизации катаболических процессов в мозге и дают основание предположить, что деградации подвергаются не только рибосомы. При охлаждении и в начале оцепенения в цитоплазме много АФ, содержащих и рибосомы, и фрагменты мембранных структур (рис. 4, *a—в*), к середине баута АФ превращаются в аутофаголизосомы (рис. 4, *д, е*). Последовательность превращений ЭР и АГ в пирамидах поля СА3 при переходе сусликов от нормотермии между баутами к оцепене-

нию можно представить так: осыпание рибосом с ЭР → трансформация плоских цистерн шероховатого ЭР в тубулярные структуры → прекращение транспорта новых белков от ЭР к АГ → везикуляризация АГ → поглощение фрагментов гладкого ЭР и АГ аутофагосомами → деградация части мембранных структур и рибосом в аутофаголизосомах.

Восстановление ЭР начинается еще до полного разогрева сусликов. Для пирамид СА3 с середины баута оцепенения характерно присутствие в цитоплазме многослойных мембранных структур нескольких типов, которые имеют прямой контакт с цистернами шероховатого ЭР (рис. 5). Среди них можно встретить и крупные (2—3 мкм) многослойные образования из концентрически расположенных и плотно прилегающих друг к другу

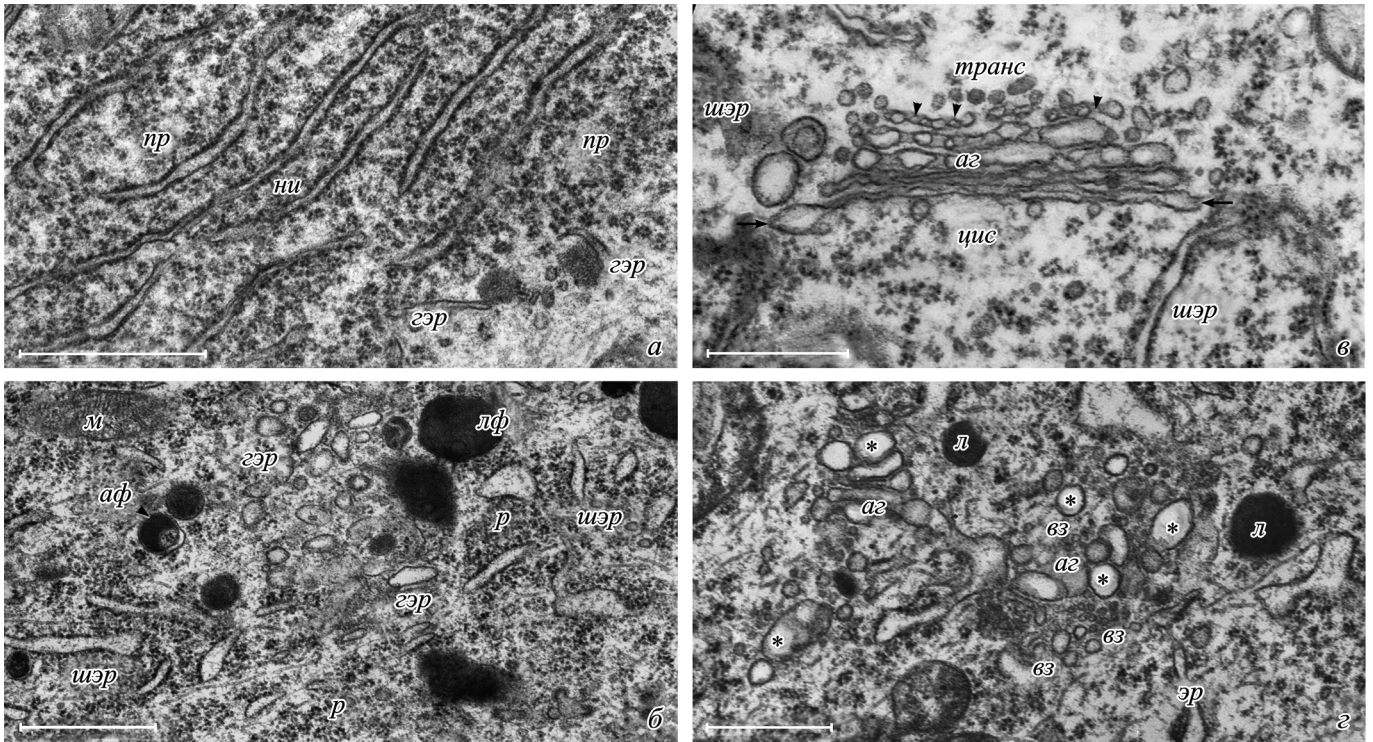


Рис. 3. Трансформация структуры ЭР (а, б) и АГ (в, з) в пирамидных нейронах поля СА3 гиппокампа сусликов при переходе сусликов от нормотермии (а, в,  $T_m$  37 °С) к холодovому оцепенению (б, з,  $T_m$  4 °С).

При охлаждении рибосомы осыпаются с ЭР и уменьшается длина его профилей (а, б). АГ распадается на везикулы, при этом диктисомы редуцируются. в3 — везикулы, р — отдельные рибосомы, цис и транс — цис- и трансстороны АГ. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1. Концевые расширения цистерн АГ (в, стрелки), везикуло-тубулярный компартмент АГ (в, головки стрелок). Масштабные отрезки — 0,5 (а–в) и 1 (з) мкм.

мембран толщиной 6–7 нм, собранных в слои по 10–15 штук (рис. 5, а, б). Подобные образования называют миелоноподобными телами. Структура их близка, но не идентична миелину (Комиссарчик, 1975; Nunomura, Miagishi, 1993; Семакова, Киселева, 2003). Но кроме участков с плотной миелоноподобной упаковкой в таких структурах есть области, где соседние мембраны расходятся и между ними образуется просвет шириной 12–20 нм, заполненный мелкоструктурированным матриком (рис. 5, а, в центре и правая вставка). В этих местах структура уже напоминает упорядоченно упакованный гладкий ЭР.

Еще один вариант мультиламеллярных структур, возможно имеющих отношение к восстановлению ЭР в ней-

ронах сусликов, мы обозначили как многослойные мешки (рис. 5, з–е). Они встречаются чаще, чем описанные выше образования, но тоже только в середине баута и его второй половине. Размеры мембранных мешков варьируют от 1,5 до 5 мкм. Мешки в отличие от плотных миелоноподобных образований не замкнуты (рис. 5, а, б). Внутри них из цитоплазматических структур присутствуют только моносомы и иногда короткие фрагменты шероховатого ЭР (рис. 5, з–е). Большой частью они представляют собой упорядоченно упакованные стопки протяженных плоских цистерн, в основном гладкого ЭР. Эти стопки содержат и участки структур миелинового типа (рис. 5, д, белые треугольники). Важно, что с самого начала в мешках есть участки шероховатого ЭР. Связанные рибо-

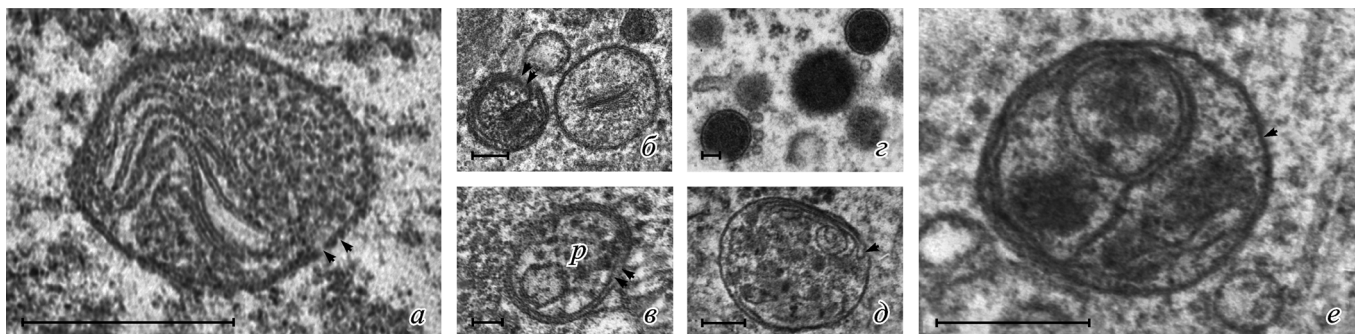


Рис. 4. Аутофагосомальная деградация мембранных структур и рибосом в пирамидных нейронах поля СА3 гиппокампа сусликов при охлаждении и в начале оцепенения.

Аутофагосомы (а–в), первичные лизосомы (з), аутофаголизосомы (д, е). р — рибосомы, головки стрелок — двойные и одинарные наружные мембраны структур. Масштабные отрезки — 0,25 (а–е) и 0,1 (б–д) мкм.

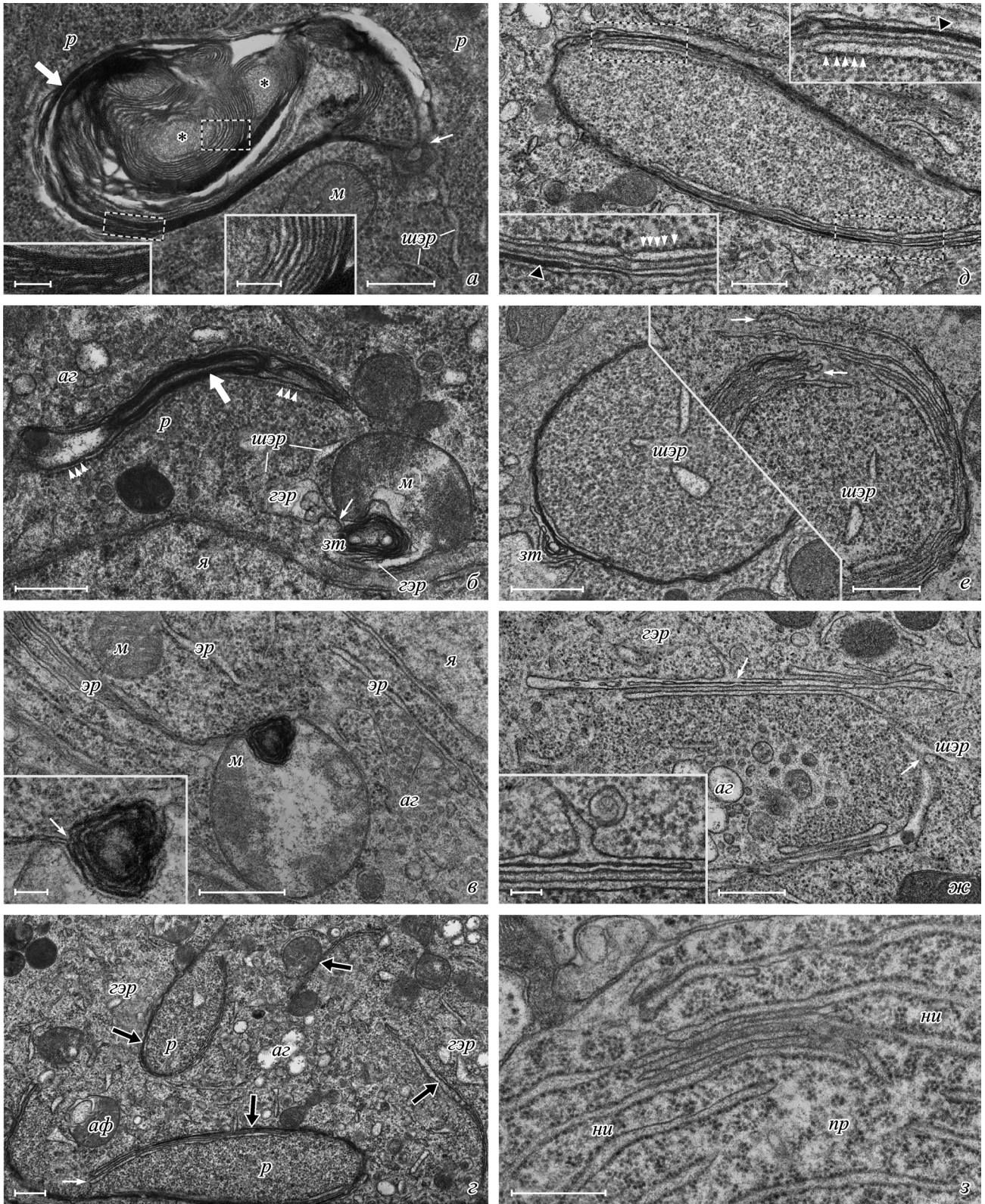


Рис. 5. Восстановление ЭР в пирамидных нейронах поля СА3 гиппокампа сусликов до их полного разогрева.

Мультиламеллярные мембранные структуры и новый ЭР во второй половине баута оцепенения (а—ж) и через 2 ч разогрева (з). Плотные миелоподобные структуры (а, б, *толстые белые стрелки*); завитки (б, в, е); многослойные мембранные мешки с участками упорядоченной упаковки ЭР (з — *толстые черные стрелки*, д, е); места перехода наружных цистерн миелоподобных образований и завитков в шероховатый ЭР (а—в — *тонкие стрелки*); рибосомы, прикрепленные к наружной поверхности миелоподобной структуры (а, б, *головки стрелок*) и внутренней поверхности мешка (д, *головки стрелок*); расширения ЭР на концах мешков (з, е, *справа стрелки*); боковые ответвления от цистерн формирующегося ЭР (ж, *стрелки*); неструктурированный матрикс между мембранами (а, *звездочки*); плотный матрикс, заполняющий пространство между мембранами (д, *черные треугольники*); зт — завиток; остальные обозначения те же, что и на рис. 1. Масштабные отрезки — 0.5 мкм, на вставках — 0.1 мкм.

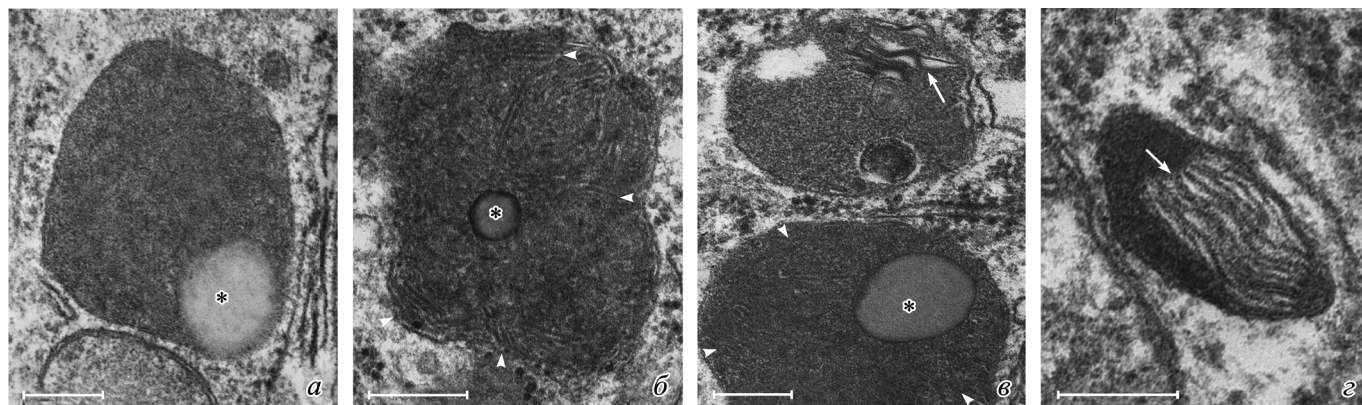


Рис. 6. Структура липофусциновых гранул в пирамидных нейронах поля СА3.

Пачки миелиноподобных мембран — *стрелки*, одиночные мембраны — *головки стрелок*, липидные капли — *звездочки*. Масштабные отрезки — 0,25 мкм.

сомы располагаются на граничащей с цитоплазматическим матриксом поверхности цистерн как с наружной, так и с внутренней стороны мешков (рис. 5, д). В плотных миелиноподобных структурах рибосомы сидят только на внешней поверхности формирующихся цистерн (5, а, б, *головки стрелок*). На концах мешков ЭР более развит, его уже частично покрытые рибосомами цистерны расходятся (рис. 5, г, е, *стрелки справа*). До начала разогрева ретикулум, хотя и имеет боковые ответвления наружных цистерн, сохраняет упаковку в виде стопок (рис. 5, ж). Когда через 2 ч после переноса в теплое помещение суслики просыпаются, шероховатый ЭР в цитоплазме пирамид СА3 прекрасно развит и образует тельца Ниссля (рис. 1, г; 5, з).

Наконец, третий тип структур, предположительно также имеющих отношение к восстановлению ЭР в нейронах сусликов, — это завитки (Le Veux et al., 1969). Они представляют собой небольшие (0,2—0,3 мкм) образования с концентрически расположенными мембранами (рис. 5, б, в, е). Для них характерно соседство с набухшими митохондриями (рис. 5, б, в). Внешние лепестки завитков тоже переходят в цистерны ЭР (рис. 5, б, *стрелки*).

Возможную последовательность событий при восстановлении ЭР в пирамидах СА3 сусликов можно представить так: появление мультиламеллярных структур типа больших миелиноподобных образований и завитков с плотной упаковкой мембран → проникновение цитоплазматического матрикса внутрь таких образований и раскручивание их в виде мешков → преобразование миелиноподобных структур в стопки упорядоченно упакованных плоских цистерн гладкого ЭР → связывание рибосом на обращенных в цитоплазму поверхностях цистерн → формирование боковых ответвлений от цистерн ЭР. К сожалению, проследить последовательность превращений ЭР в нервных клетках мозга сусликов по ходу спячки *in situ* не представляется возможным.

Ключевой вопрос для понимания механизма образования ЭР у сусликов — это происхождение мультиламеллярных мембранных структур. Обращает на себя внимание тот факт, что в ходе баута гибернации в нейронах меняется структура липофусциновых (ЛФ) гранул (рис. 1, в; рис. 6). ЛФ-гранулы гораздо крупнее, чем аутофаголизосомы, из которых они образуются (рис. 4, б). В период оцепенения часто встречаются группы из нескольких ЛФ-гранул (рис. 1, в). Структура ЛФ-гранул в нейронах весьма разнообразна (Boellaard, Schlote, 1986), в пирами-

дах гиппокампа сусликов это ярко выражено (рис. 6). Но с середины баута большая часть ЛФ-гранул содержит мембраны, связанные с липидными каплями (рис. 6, б, в). А в конце баута и при разогреве появляются ЛФ-гранулы, содержащие мультиламеллярные структуры миелинового типа (рис. 1, г; 6, в, г). Летом и между баутами оцепенения ЛФ-гранулы в этих нейронах встречаются редко.

Восстановление АГ в нейронах начинается только у разогревающихся сусликов. Первые его признаки мы видели у животных,  $T_m$  которых поднималась до 13 °С (рис. 2, д). В пирамидах СА3 преобразование структуры АГ при разогреве выглядит как зеркальное отражение процесса его редукции при охлаждении: большие прозрачные везикулы сливаются (рис. 2, д, *звездочки*), между ними формируются перемычки, напоминающие фрагменты цистерн (рис. 2, д, *стрелки*). У сусликов с  $T_m$  23 °С присутствуют уже не только крупные везикулы, их агрегаты и гантелеподобные образования, но и диктиосомы (рис. 2, е). Сразу после пробуждения ( $T_m$  36 °С) структура АГ такая же (рис. 1, г), и только через 1 сут исчезают большие прозрачные везикулы (рис. 3, а). Ни у холодных, ни у разогревающихся сусликов признаков формирования АГ *de novo* (Glick, 2002; Landhans et al., 2007) мы не видели.

## Обсуждение

Изучение зимней спячки с очевидностью показывает, что как усиление, так и прекращение активности нервных клеток связано с изменением их структуры. Всякий раз, когда суслики входят в состояние оцепенения и когда они разогреваются, структура ЭР и АГ в пирамидных нейронах поля СА3 гиппокампа меняется. У холодных сусликов большая часть нейронов находится в состоянии глубокого торможения, ЭР и АГ в них редуцированы. При разогреве нейроны активируются и органеллы восстанавливаются.

Считается, что в основе адаптации зимнеспящих животных к переживанию периодов глубокой гипотермии кроме падения скорости всех процессов лежит частичная консервация клеточных органелл (Van Breukelen, Martin, 2002; Carey et al., 2003; Von der Ohe et al., 2007). Динамичность структуры ЭР и АГ в нейронах поля СА3 гиппокампа во время спячки заставляет усомниться в этом. О том, что регуляция состояния клеток мозга сложнее, говорят и

другие наблюдения. Так, продукция и расход энергии в мозге холодных сусликов сбалансированы, и концентрация АТФ не снижается (Lust et al., 1989; Drew et al., 2007; Henry et al., 2007). Транспорт предшественников нуклеиновых кислот в клетки мозга холодных и теплых сусликов идет с одной и той же скоростью (Bocharova et al., 1992a). Резко, во много раз по сравнению со средними для грызунов значениями ускоряется распад РНК в нейронах в начальной фазе оцепенения сусликов (Stoykova et al., 1983; Bocharova et al., 1992b). В мозге зимнеящих не только скорость процессов при охлаждении меняется по-разному, но и изменения эти в разных отделах мозга не совпадают по величине и направленности (Демин и др., 1988; Bocharova et al., 1992b). Функциональная обусловленность различий ярко проявляется в гиппокампе. Так, все пирамиды поля СА3 к середине баута оцепенения теряют до 40 % рибосом. К концу баута в клетках дорсальной части гиппокампа количество рибосом растет в 1.5 раза, а в таких же нейронах вентрального гиппокампа практически не меняется. Там запас рибосом восстанавливается только при пробуждении сусликов (Bocharova et al., 1992b). Объяснить это можно тем, что функции дорсальной и вентральной частей гиппокампа различаются (Fanselow, Dong, 2010). Нейроны вентрального гиппокампа влияют преимущественно на эмоциональную сферу, их активация имеет смысл только после разогрева. Очевидно, что у холодных сусликов уровень активности нейронов в большей степени влияет на их метаболизм и состояние клеточных структур, чем температура.

В циклах оцепенение—разогрев в нейронах меняется структура не только ЭР и АГ, но и рибосом (Gordon et al., 1997), и ядрышек (Гордон и др., 2006), т. е. развивается генерализованная реакция всей системы синтеза, созревания и транспорта белков. Чаще всего прекращение синтеза на время оцепенения рассматривают как способ сбережения ресурсов клеток (Van Breukelen, Martin, 2002; Carey et al., 2003). Более вероятно, что это проявление универсального, неспецифического адаптационного синдрома, способ преодоления клеточных стрессов (Браун, Моженок, 1987). И остановка синтеза белка (Frerichs et al., 1998; Carey et al., 2003; Гордон и др., 2006), и ремоделирование ЭР и АГ (рис. 1, 2, 5) происходят в нейронах сусликов уже при снижении  $T_m$  до 23—18 °С. Ясно, что это не результат оцепенения, а один из этапов процесса подготовки клеток к переживанию этого состояния. Остановка синтеза сопровождается осыпанием рибосом с ЭР и трансформацией части его плоских цистерн в тубулярные структуры (рис. 1, 3). Как известно, структура ЭР меняется в ответ на самые разные стимулы (Powell, Latterich, 2000; Fedorovitch et al., 2005; Snapp, 2005; Shibata et al., 2009), в том числе и на остановку синтеза белка (Shibata et al., 2006; Puhka et al., 2007). Тип трансформации и ЭР, и АГ в нейронах сусликов однозначно определяется тем, как меняется скорость синтеза белка в разные фазы цикла оцепенение—разогрев, поэтому ее тоже можно отнести к разряду типичных реакций.

Необычно быстрое накопление большого числа АФ в нейронах при входе сусликов в оцепенение (рис. 1; 4, а—в) не является проявлением патологии нейронов (Sulzer et al., 2008; Tooze, Schiavo, 2008), так как между баутами количество АФ и их производных ЛФ-гранул резко снижается. Маловероятно, что АФ появляются в результате голодания нейронов (Ushiyama et al., 2008; He, Klionsky, 2009). Скорее всего, усиление аутофагии вызвано стрессом ЭР. Важнейшее проявление этой формы клеточ-

ного стресса состоит в образовании неправильных (misfolded) белков, которые токсичны (Ron, 2002; He, Klionsky, 2009). Стресс ЭР индуцирует появление АФ, разрушение неправильных белков в них спасает клетки от апоптотической гибели (Hoyer-Hansen, Jäättelä, 2007; Kawakami et al., 2009), в том числе и в мозге (Ogata et al., 2006; Komatsu et al., 2007). Еще в 2002 г. сделано предположение о том, что у сусликов стресс ЭР в клетках мозга сопровождается вход в оцепенение (Ron, 2002). Разрушение неправильных белков в АФ в экстремальных условиях прерывистой спячки обеспечивает снижение вероятности гибели нейронов.

Идея о том, что часть ЭР наряду с митохондриями и пероксисомами может быть убрана посредством аутофагии, высказывалась не раз (Fedorovitch et al., 2005; Mijaljica et al., 2006; Yorimitsu, Klionsky, 2007; Klionsky, 2009), но показано это только при развитии ретикулярного стресса в единичных случаях (Bernales et al., 2006; Hu et al., 2009). Накопление в нейронах остывающих сусликов АФ с фрагментами мембранных образований в них в (рис. 4) свидетельствует о том, что и у млекопитающих работает этот механизм регулирования объема ЭР. Но если дрожжи таким образом убирают избыточный шероховатый ЭР, образованный для синтеза индуцированных белков (Bernales et al., 2006), то в нейронах АФ захватывают фрагменты гладкого ЭР и одиночные рибосомы (рис. 2; 4, а—в). Избыток ЭР в нейронах нет ни на одной из стадий спячки.

Рибосомы относят к самым стабильным клеточным структурам, но недавно появились сообщения об их аутофагии (Beau et al., 2008; Kraft et al., 2008). Ликвидируются неработающие рибосомы (Beau et al., 2008; Nakatogawa, Ohsumi, 2008). В период оцепенения в нейронах наблюдается много АФ с рибосомами (рис. 4, а, в). Убираются именно свободные рибосомы, не объединенные в полисомы, и их разрушение идет по механизму аутофагии. До ясного понимания причин и механизмов обновления клеточных структур еще далеко, но базовый принцип уже обозначен: клетки съедают избыточные или неработающие структуры (Mijaljica et al., 2006; Beau et al., 2008). В ходе гибернации нейроны убирают часть рибосом и ЭР.

Уникален процесс очень быстрого восстановления в нейронах и числа, и структуры клеточных органелл в фазе пробуждения (рис. 1—3, 5). За сезон спячки обновление органелл повторяется много раз. Синтез для этого недостаточен быстр и требует огромного расхода пластических и энергетических ресурсов. Только реутилизация, повторное использование предшественников нуклеиновых кислот, белков и липидов, накапливающихся в аутофаголизосомах, не может обеспечить такое быстрое образование новых органелл. Так, даже при нормальной температуре в мозге грызунов обновляется в среднем 5 % рибосом за 1 сут (Stoykova et al., 1983), а у сусликов в нейронах гиппокампа их количество почти удваивается всего за 2 ч разогрева (Bocharova et al., 1992b). Восстановление мембранных клеточных структур у сусликов тоже идет очень быстро и завершается в основном до их полного пробуждения.

Сборка структур из фрагментов может быть альтернативой синтезу (Misteli, 2001). Из липидов и немногочисленных белков в бесклеточной системе образуются структуры, подобные ЭР, как гладкому, так и шероховатому (Lavoie et al., 1996; Shnyrova et al., 2008). В клетках мембраны и их комплексы собираются в АФ- и ЛФ-гранулы (Boroviagin et al., 1972; Feldman et al., 1981; Nunomura, Mi-



agishi, 1993; Hariri et al., 2000). Вероятность сборки мультиламеллярных структур в АФ критически зависит от уровня активности гидролаз (Nunomura, Miagishi, 1993; Hariri et al., 2000; Ushiyama et al., 2008). Мультиламеллярных структур в аутофаголизосомах нет как при высокой активности лизосомальных гидролаз, так и в случае их полной блокады. Но если возникает определенная недостаточность гидролаз и поглощенные органеллы разрушаются не полностью, то мультиламеллярные структуры формируются (Nunomura, Miagishi, 1993; Hariri et al., 2000). Ферменты в аутофаголизосомах появляются не только в результате слияния с лизосомами, но и в результате слияния с транспортными везикулами из АГ (Ushiyama et al., 2008). Остановка синтеза, естественно, ведет к прекращению их транспорта из АГ, и в аутофаголизосомах возникает недостаточность гидролаз (Lawrence, Brown, 1993). Именно это случается в нейронах сусликов: к середине баута готовые лизосомы уже использованы, а новым порциям ферментов взяться неоткуда. В результате аутофаголизосомы превращаются в ЛФ-гранулы (рис. 1, б), а ЛФ-гранулы могут формировать крупные агрегаты. В случае старения и развития в мозге патологических процессов ЛФ-гранулы сохраняются до конца жизни (Boellaard, Schlote, 1986; Sulzer et al., 2008), а в спячке между баутами гибернации их редко можно встретить в нейронах. Они либо ликвидируются, либо как-то используются.

Мультиламеллярные структуры — это не только форма сохранения липидов, накапливающихся при распаде органелл (Le-Beux et al., 1969; Feldman et al., 1981; Schmitz, Muller, 1991). По-видимому, они исполняют роль основы для быстро формирующегося ЭР. Клеточные мембраны различаются набором липидов и содержанием белков (Комиссарчик, 1975). Вероятность образования мультиламеллярных структур увеличивается, когда в аутофаголизосомах разбираются мембраны внутриклеточных органелл (Lajoie et al., 2005). В свою очередь состав мембран предопределяет форму клеточных структур (Voeltz, Prinz, 2007; Shibata et al., 2009). В нейронах холодных сусликов мультиламеллярные структуры в ЛФ-гранулах строятся преимущественно из остатков мембранных внутриклеточных структур, и они легко могут превращаться в ЭР.

Сборка АГ совсем не уникальна, скорее это обычный процесс (Mistel, 2001; Glick, 2002). Например, во время митоза АГ тоже распадается на везикулы, как в нейронах охлаждающихся сусликов (рис. 2). После завершения деления везикулы в клетках объединяются, и структура АГ восстанавливается (Persico et al., 2009). Сборка ЭР многим отличается от сборки АГ — это уникальная форма обновления органелл. Обычное формирование ЭР de novo идет от наружной мембраны ядерной оболочки (Pannese, 1968), в условиях спячки сборка ЭР происходит в специальных структурах (аутофаголизосомах и ЛФ-гранулах) из депонированных и полупереваренных в лизосомах фрагментов.

В организме зимнеящих органы и ткани во время спячки защищены от разнообразных стрессов, что обеспечивает их выживание (Carey et al., 2003; Drew et al., 2007; Storey, Storey, 2007). В особенности это касается клеток мозга.

По крайней мере часть нейронов может реализовать уникальный механизм клеточной адаптации, экономное обновление мембранных структур цитоплазмы посредством сборки их из фрагментов, а не путем синтеза. В тех

нервных клетках, быстрая активация которых необходима для нормального выхода из спячки, и удаление поврежденных, и сборка новых структур элементов обеспечиваются аутофагией.

### Список литературы

- Браун А. Д., Моженко Т. П. 1987. Неспецифический адаптационный синдром клеточной системы. Л.: Наука. 230 с.
- Головина Т. Н. 1988. Белки и РНК и системе нейрон—нейроглия супраоптического ядра и активность кислых пептидгидролаз головного мозга суслика при выходе из зимней спячки. Нейрохимия. 7 (1): 91—94.
- Гордон Р. Я., Игнатьев Д. А., Рогачевский В. В., Медведев Н. И., Краев И. В., Патрушев И. В., Хуцян С. С., Попов В. И. 2006. Изменение активности белоксинтезирующей системы нейронов головного мозга грызунов при зимней спячке и гипотермии. Журн. эволюц. биохим. физиол. 42 (3): 237—243.
- Демин Н. Н., Шортанова Т. Х., Эмирбеков Э. 3 1988. Нейрохимия зимней спячки. Л.: Наука. 137 с.
- Комиссарчик Ю. Я. 1975. Структура и химический состав клеточных мембран. В кн.: Структура и функции биологических мембран. М.: Наука. 8—25.
- Семакова К. Н., Киселева Е. В. 2003. Миелоподобные структуры как возможный источник гладкого эндоплазматического ретикула в ранних ооцитах амфибий. Цитология. 45 (8): 746—757.
- Снигиревская Е. С., Соколова Ю. Я., Комиссарчик Ю. Я. 2006. Структурно-функциональная организация аппарата Гольджи. Цитология. 48 (1): 57—80.
- Штарк М. Б., 1970. Мозг зимнеящих. Новосибирск: Наука. 240 с.
- Altan-Bonnet N., Lippincott J. 2005. The Golgi apparatus: structure, function and cellular dynamics. In: Biogenesis of cellular organelles. New York: Academic/Plenum. 96—110.
- Beau I., Esclatine A., Codongo P. 2008. Lost to translation: when autophagy targets mature ribosomes. Trends Cell Biol. 18: 311—314.
- Bejarano E., Bejarano E., Gabrera M., Vega L., Hidalgo J., Velasco A. 2006. Golgi structural stability and biogenesis depend on associated PKA activity. J. Cell Sci. 119: 3764—3775.
- Bernales S., McDonald K. L., Walter P. 2006. Autophagy counterbalances endoplasmic reticulum expansion during the unfolded protein response. PLoS Biol. 4: e423.
- Bocharova L. S., Boroviagin V. L., Dyakonova T. L., Warton S. S., Veprintsev B. N. 1972. Ultrastructural analysis and RNA synthesis in a molluscan giant neuron under electrical stimulation. Brain Res. 36: 371—384.
- Bocharova L. S., Gordon R. Ya., Archipov V. I. 1992a. Uridine uptake and RNA synthesis in the brain of torpid and awoken ground squirrels. Comp. Biochem. Physiol. 101B: 189—192.
- Bocharova L. S., Gordon R. Ya., Popov V. I. 1992b. RNA metabolism in the brain of hibernators. II. Rapid changes in the neuronal ribosome RNA content. In: Mechanisms of natural hypometabolic states. Puschino: Puschino Res. Center. 125—132.
- Boellaard J. W., Schlote W. 1986. Ultrastructural heterogeneity of neuronal lipofuscin in the normal cerebral cortex. Acta neuropathol. 71: 285—294.
- Borgese N., Francolini M., Snapp E. 2006. Endoplasmic reticulum architecture: structures in flux. Curr. Opin. Cell Biol. 18: 358—364.
- Boroviagin V. L., Salanki J., Zs-Nagy I. 1972. Ultrastructural alterations in the cerebral ganglion of Anadonta C. induced by transection of the cerebro-visceral connective. Acta Biol. Acad. Sci. Hung. 23: 31—45.
- Carey H. V., Andrews M. T., Martin S. L. 2003. Mammalian hibernation: cellular and molecular responses to depressed metabolism and low temperature. Physiol. Rev. 83: 153—181.
- Del Valle M., Robledo I., Sandoval I. V. 1999. Membrane flow through the Golgi apparatus: specific disassembly of the cis-Golgi network by ATP depletion. J. Cell Sci. 112: 4017—4029.

- Drew K. L., Buck C. L., Barnes B. M., Christian S. L., Rasley B., Harris M. 2007. Central nervous system regulation of mammalian hibernation: implications for metabolic suppression. *J. Neurochem.* 102 : 1713—1726.
- Fanselow M. S., Dong H.-W. 2010. Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures? *Neuron.* 65 : 7—19.
- Fedorovitch C. M., Ron D., Hampton R. Y. 2005. The dynamic ER: experimental approaches and current questions. *Curr. Opin. Cell Biol.* 17 : 409—414.
- Feldman D., Swarm R. L., Becker J. 1981. Ultrastructural study of rat liver and liver neoplasms after long-term treatment with phenobarbital. *Cancer Res.* 41 : 2151—2161.
- Frerichs K. U., Smith C. B., Brenner M., DeGracia D. J., Krause G. S., Marrone L., Dever T., Hallenbeck J. M. 1998. Suppression of protein synthesis in brain during hibernation involves inhibition of protein initiation and elongation. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 95 : 14 511—14 516.
- Glick B. S. 2002. Can the Golgi form *de novo*? *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 3 : 615—618.
- Gordon R. Ya., Bocharova L. S., Kruman I. I., Popov V. I., Kazantsev A. P., Khutzian S. S., Karnaukhov V. N. 1997. Acridine orange as an indicator of the cytoplasmic ribosome state. *Cytometry.* 29 : 215—221.
- Hariri M., Millane G., Guimond M.-P., Guay G., Dennis J. W., Nabi I. 2000. Biogenesis of multilamellar bodies via autophagy. *Mol. Biol. Cell.* 11 : 25—26.
- He C., Klionsky D. 2009. Regulation mechanisms and signaling pathways of autophagy. *Annu. Rev. Genet.* 43 : 67—93.
- Heller H. C. 1979. Hibernation: neuronal aspects. *Annu. Rev. Physiol.* 40 : 305—332.
- Henry P.-G., Russeth K. P., Tkac I., Drewer L. R., Andrews M. T., Gruetter R. 2007. Brain energy metabolism and neurotransmission at near-freezing temperatures: *in vivo* 1H MRS study of a hibernating mammal. *J. Neurochem.* 101 : 1505—1515.
- Hoyer-Hansen M., Jäätelä M. 2007. Connecting endoplasmic reticulum stress to autophagy by unfolded protein response and calcium. *Cell Death Differ.* 14 : 1576—1582.
- Hu J., Shibata Y., Voss C., Shemesh T., Li Z., Coughlin M., Kozlov M., Rapoport T., Kawakami T., Inagi R., Takano H., Sato S., Ingelfinger J. R., Fujita T., Nangaku M. 2009. Endoplasmic reticulum stress induces autophagy in renal proximal tubular cells. *Nephrol. Dial. Transpl.* 24 : 2665—2672.
- Kawakami T., Inagi R., Takano H., Sato S., Ingelfinger J. R., Fujita T., Nangaku M. 2009. Endoplasmic reticulum stress induces autophagy in renal proximal tubular cells. *Nephrol. Dial. Transpl.* 24 : 2665—2672.
- Komatsu M., Ueno T., Waguri S., Ichiyama Y., Kominami E., Tanaka K. 2007. Constitutive autophagy: vital role in clearance unfavorable proteins in neurons. *Cell Death Differ.* 14 : 887—894.
- Kraft C., Depazes A., Sohrmann M., Peter H. 2008. Mature ribosomes are selectively degraded upon starvation by an autophagy pathway requiring the Ubp3/Bra5p ubiquitin protease. *Nature Cell Biol.* 10 : 602—610.
- Krilowicz B. L., Glotzbach S. F., Heller H. 1988. Neuronal activity during sleep and complete bouts of hibernation. *Amer. J. Physiol.* 255 : R1008—R1019.
- Lajoie P., Guay G., Dennis J. W., Nabi I. 2005. The lipid composition of autophagic vacuoles regulates expression of multilamellar bodies. *J. Cell Sci.* 118 : 1991—2003.
- Landhans M., Hawes C., Hillmer S., Hummel E., Robinson D. G. 2007. Golgi regeneration after brefeldin A treatment in BY-2 cells entails stack enlargement and cytoskeletal growth followed by division. *Plant Physiol.* 145 : 527—538.
- Lavoie C., Lanoix J., Kan F. W. K., Paient J. 1996. Cell-free assemble of rough and smooth endoplasmic reticulum. *J. Cell Sci.* 109 : 1415—1425.
- Lawrence B. P., Brown W. J. 1993. Inhibition of protein synthesis separates autophagic sequestration from the delivery of lysosomal enzymes. *J. Cell Sci.* 105 : 473—480.
- Le-Beux Y., Hetenyi G., Phillips M. J. 1969. Mitochondrial myelin-like figures: a non-specific reactive process of mitochondrial phospholipids membranes to several stimuli. *Z. Zellforschung.* 99 : 491—506.
- Lust W. D., Wheatson A. B., Feussner G., Pasonneau J. 1989. Metabolism in the hamster brain during hibernation and arousal. *Brain Res.* 489 : 12—20.
- Mijaljica D., Prescott M., Devennish R. 2006. Endoplasmic reticulum and Golgi complex: contribution to and turnover by autophagy. *Traffic.* 7 : 1590—1595.
- Misteli T. 2001. The concept of self-organization in cellular architecture. *J. Cell Biol.* 155 : 181—185.
- Nakatogawa H., Ohsumi Y. 2008. Starved cells eat ribosomes. *Nature Cell Biol.* 10 : 505—507.
- Nunomura A., Miagishi T. 1993. Ultrastructural observations on neuronal lipofuscin (age pigment) and dense bodies induced by a proteinase inhibitor, leupeptin, in rat hippocampus. *Acta neuropathol.* 86 : 319—328.
- Ogata M., Hino S., Saito A., Morikawa K., Kondo S., Kantvoto S., Kondo S., Kannemoto S., Murakami T., Taniguchi V. I., Tani M., Yoshingpa K., Shiosaka S., Hammarback J. A., Urano E., Imaizumi K. 2006. Autophagy is activated for cell survival after endoplasmic reticulum stress. *Mol. Cell. Biol.* 26 : 9220—9231.
- Pannese E. 1968. Developmental changes of the endoplasmic reticulum and ribosomes in nerve cells of the spinal ganglion of the domestic fowl. *J. Com. Neurol.* 132 : 331—363.
- Pathak R. K., Luskey K. L., Anderson R. G. W. 1986. Biogenesis of crystalloid endoplasmic reticulum in UT-1 cells: evidence that newly formed endoplasmic reticulum emerges from the nuclear envelopment. *J. Cell Biol.* 102 : 1258—1268.
- Persico A., Cervigni R. I., Barretta M. L., Colanzi A. 2009. Mitotic inheritance of the Golgi complex. *FEBS Lett.* 583 : 3857—3862.
- Popov V. I., Bocharova L. S. 1992. Hibernation-induced structural changes in synaptic contacts of mossy fibers and hippocampal pyramidal neurons. *Neuroscience.* 48 : 53—62.
- Popov V. I., Bocharova L. S., Bragin A. G. 1992. Repeated changes of dendritic morphology in the hippocampus of ground squirrels in the course of hibernation. *Neuroscience.* 48 : 45—51.
- Powell K. S., Latterich M. 2000. The making and breaking of the endoplasmic reticulum. *Traffic.* 1 : 689—694.
- Puhka M., Vihinen H., Joensuu M., Jokitalo E. 2007. Endoplasmic reticulum remains continuous and undergoes sheet-to-tubule transformation during cell division in mammalian cells. *J. Cell Biol.* 179 : 895—909.
- Ron D. 2002. Translational control in the endoplasmic reticulum stress response. *J. Clin. Invest.* 110 : 1383—1388.
- Schmitz G., Muller G. 1991. Structure and function of lamellar bodies, lipid-protein complexes involved in storage and secretion of cellular lipids. *J. Lipid Res.* 22 : 1539—1570.
- Shibata Y., Hu J., Kozlov M., Rapoport R. A. 2009. Mechanisms shaping the membranes of cellular organelles. *Annual Rev. Cell Develop. Biol.* 25 : 329—354.
- Shibata Y., Voeltz G. K., Rapoport T. A. 2006. Rough sheets and smooth tubules. *Cell.* 126 : 435—439.
- Shnyrova A., Frolov V. A., Zimmerberg J. 2008. ER biogenesis: self-assembly of tubular topology by protein hairpins. *Curr. Biol.* 18 : R474—R476.
- Snapp E. 2005. Endoplasmic reticulum biogenesis: proliferation and differentiation. In: *Biogenesis of cellular organelles.* New York: Klumer Academic/Plenum. 63—95.
- Storey K. B., Storey J. M. 2007. Tribute to P. L. Lutz; putting life on «pause» — molecular regulation of hypometabolism. *J. Exp. Biol.* 210 : 700—714.
- Stoykova A. S., Dudov K. R., Dabeva M. D., Hadhjiolov A. A. 1983. Different rates of synthesis and turnover of ribosomal RNA in rat brain. *J. Neurochem.* 41 : 942—949.
- Sulzer D., Mosharov E., Tallozy Z., Zucca F. A., Simon J. D., Zecca L. 2008. Neuronal pigmented autophagic vacuoles: lipofuscin, neuromelanin, and ceroid as macroautophagic responses during aging and disease. *J. Neurochem.* 106 : 24—36.
- Tooze S. A., Schiavo G. 2008. Liaisons dangereuses: autophagy, neuronal survival and neurodegeneration. *Curr. Opin. Neurobiol.* 18 : 504—515.

Ushiyama Y., Shibata M., Koike M., Yoshimura M., Sasaki M. 2008. Autophagy — physiology and pathophysiology. *Histochem. Cell Biol.* 12 : 407—420.

Van Breukelen F., Martin S. 2002. Molecular adaptation in mammalian hibernators: unique adaptations or generalized responses? *J. Appl. Physiol.* 92 : 2640—2647.

Voeltz G. K., Prinz W. A. 2007. Sheets, ribbons and tubules — how organelles get their shape. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 8 : 258—264.

Von der Ohe C. G., Garner C. C., Darian-Smith D., Heller H. G. 2007. Synaptic protein dynamic in hibernation. *J. Neurosci.* 27 : 184—192.

Yorimitsu T., Kionsky D. J. 2007. Eating of endoplasmic reticulum: quality control by autophagy. *Trends Cell Biol.* 17 : 289—298.

Поступила 13 VII 2010

#### CYCLIC STRUCTURAL CHANGES IN ENDOPLASMIC RETICULUM AND GOLGI COMPLEX IN THE HIPPOCAMPAL NEURONS OF GROUND SQUIRRELS DURING HIBERNATION

L. S. Bocharova,<sup>1</sup> R. Ya. Gordon,<sup>2,\*</sup> V. V. Rogashevsky,<sup>2</sup> D. A. Ignatyev,<sup>2</sup> S. S. Khutzian<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Institute of Theoretical and Experimental Biophysics RAS  
and <sup>2</sup> Institute of Cell Biophysics RAS, Puschino, Moscow Region;  
\* e-mail: ritagordon@mail.ru

Repetitive remodeling and renewal of the cytoplasmic structures realizing synthesis of proteins accompanies the cycling of ground squirrels between torpor and arousal states during hibernation season. Earlier we have shown partial loss of ribosomes and nucleolus inactivation in CA3 hippocampal pyramidal neurons in each bout of torpor with rapid and full recovery after warming up. Here we describe reversible structural changes in endoplasmic reticulum (ER) and Golgi complex (G) in these neurons. Transformation of ER from mainly cisternal to tubular form and from mainly granular to smooth type occurs at every entrance in torpor, while the opposite change occurs at arousal. Torpor state is also associated with G fragmentation and loss of its flattened cisternae. Appearance in torpor of the autophagosomal vacuoles containing fragments of membrane structures and ribosomes is a sign of their partial destruction. Granular ER restoration, perhaps through assembly from the multilamellar membrane structures, whorls or bags, begins as early as in the middle of the torpor bout, while G flattened cisternae reappear only at warming. ER and G completely restore their structure 2—3 hours after the provoked arousal. Thus, hibernation represents an example of nerve cell structural adaptation to alterations in functional and metabolic activity through both active destruction and renewal of ribosomes, ER, and G. Perhaps, it is the incomplete ER autophagosomal degradation at torpor provides its rapid renewal at arousal by reassembly from the preserved fragments.

**Key words:** endoplasmic reticulum, Golgi complex and ribosomes renewal, autophagy, neurons, functional adaptation, hibernation.