

© Г.Г.Аминова, 2017
УДК 591.481.4:612.015.1

Г.Г.Аминова

АКТИВНОСТЬ КИСЛОЙ ФОСФАТАЗЫ И СТРОЕНИЕ НЕЙРОНОВ ЗВЕЗДЧАТОГО УЗЛА У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Лаборатория функциональной анатомии (зав. — проф. Л.М.Ерофеева), ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека», Москва

Методом Гомори исследован звездчатый узел у коров ($n=30$) различного возраста. Ганглий представляет собой компактное образование, в котором располагаются крупные, средние и мелкие нейроны с разной активностью кислой фосфатазы (КФ) и сложным взаимоотношением отростков. С возрастом отмечается увеличение размеров нейронов, после 13 лет — уменьшение. Клетки и их отростки имеют разную активность фермента. У плодов они малоактивны. У половозрелых животных наиболее высокой активностью КФ обладают крупные нейроны. Отростки отдельных нейронов образуют плотные сплетения с высокой активностью КФ. В звездчатом узле нередко обнаруживаются высокоактивные «колбы роста» и синаптические окончания. Разная активность КФ отражает неодинаковый уровень метаболизма нейронов и, вероятно, связана с различиями их функциональной активности.

Ключевые слова: звездчатый ганглий, нейроны, кислая фосфатаза

Современные методы исследования, используемые в нейрогистологии, позволяют изучать не только структуры разных нейронов, но и особенности происходящих в них физиологических процессов [2]. Интерес морфологов в основном связан с изучением ЦНС [1, 6], в меньшей степени исследуются элементы автономной нервной системы [2, 3, 5]. Этим объясняется недостаточность сведений не только о морфологических особенностях нейронов разных автономных ганглиев человека и животных, но и их внутренних связях, особенностях метаболизма клеток, содержания ферментов, химических соединений, участвующих в передаче нервных импульсов. Менее всего автономная нервная система изучена у сельскохозяйственных животных (крупного рогатого скота). Поэтому целью данной работы явилось исследование строения звездчатого узла у коровы.

Материал и методы. Звездчатые узлы были получены от коров ($n=30$) в возрасте от 6 мес до 13 лет (возраст определяли по стертости зубов). Животные условно были разделены на группы: молодые — 6 мес, 1,5 и 3 года, половозрелые — 6–8 лет (период высокой продуктивности) и 10–13 лет (время снижения продуктивности). Кроме того, было проведено исследование 2 плодов длиной 54 см (расстояние от затылочно-атлантного сустава до корня хвоста). Материал был взят на Московском мясокомбинате в сентябре месяце после ветеринарной экспертизы органов животных. Время от момента смерти животного до взятия материала составляло 30 мин. Материал сразу помещали в термос с холодным 80 ° спиртом и после замены фиксировали в холодильнике в течение 1–2 сут при температуре $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$, далее обрабаты-

ли по методу Гомори в модификации A.Wolf и соавт. [4, 9]. Оценку активности кислой фосфатазы (КФ), позволяющей отчетливо определять морфологические структуры нейронов и места ее локализации [1], проводили по 5-балльной шкале: 1 балл — означал отсутствие реакции. Слабую желтоватую окраску клетки принимали за 2 балла, как 3 балла оценивали светло-коричневую окраску нейронов, 4 баллам соответствовал коричневый цвет, а 5 баллам — темно-коричневый. Контроль специфичности реакции проводили двумя способами: 1) исключением из инкубационной среды субстрата (α - β -глицерофосфата натрия) с добавлением вместо него дистиллированной воды; 2) инактивацией срезов перед инкубацией в дистиллированной воде при температуре 80 °C в течение 10 мин. С использованием морфометрии были выделены 3 группы клеток: крупные, средние и мелкие (от 95 мкм до 40 мкм). Клетки измеряли по длинной оси окулярным микрометром по 100 клеток каждого размера в каждом исследованном случае. Размеры нейронов определяли у животных в возрасте 6 мес ($n=3$), 1,5 ($n=4$) и 3 ($n=3$) года, 6–8 ($n=10$) и 10–13 лет ($n=10$), а также у 2 плодов. Статистический анализ осуществляли с использованием программного обеспечения Statistica 6.0 и Microsoft Excel. Критическим уровнем значимости результатов считали $P\leq 0,05$.

Результаты исследования. Изучение звездчатого узла под лупным увеличением показало, что, на фоне равномерной его окраски в срезе могут наблюдаться единичные участки с более интенсивной окраской. Нейроны в узле расположены довольно плотно и равномерно. Форма нейронов разнообразна и во многом определяется количеством отростков, которые могут быть весьма многочисленными и иметь различную толщину (рис. 1, а–в).

Сведения об авторе:

Аминова Ульшат Гареевна (e-mail: Lab-funkanat@yandex.ru), лаборатория функциональной анатомии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека», 117418, Москва, ул. Цюрупы, 3

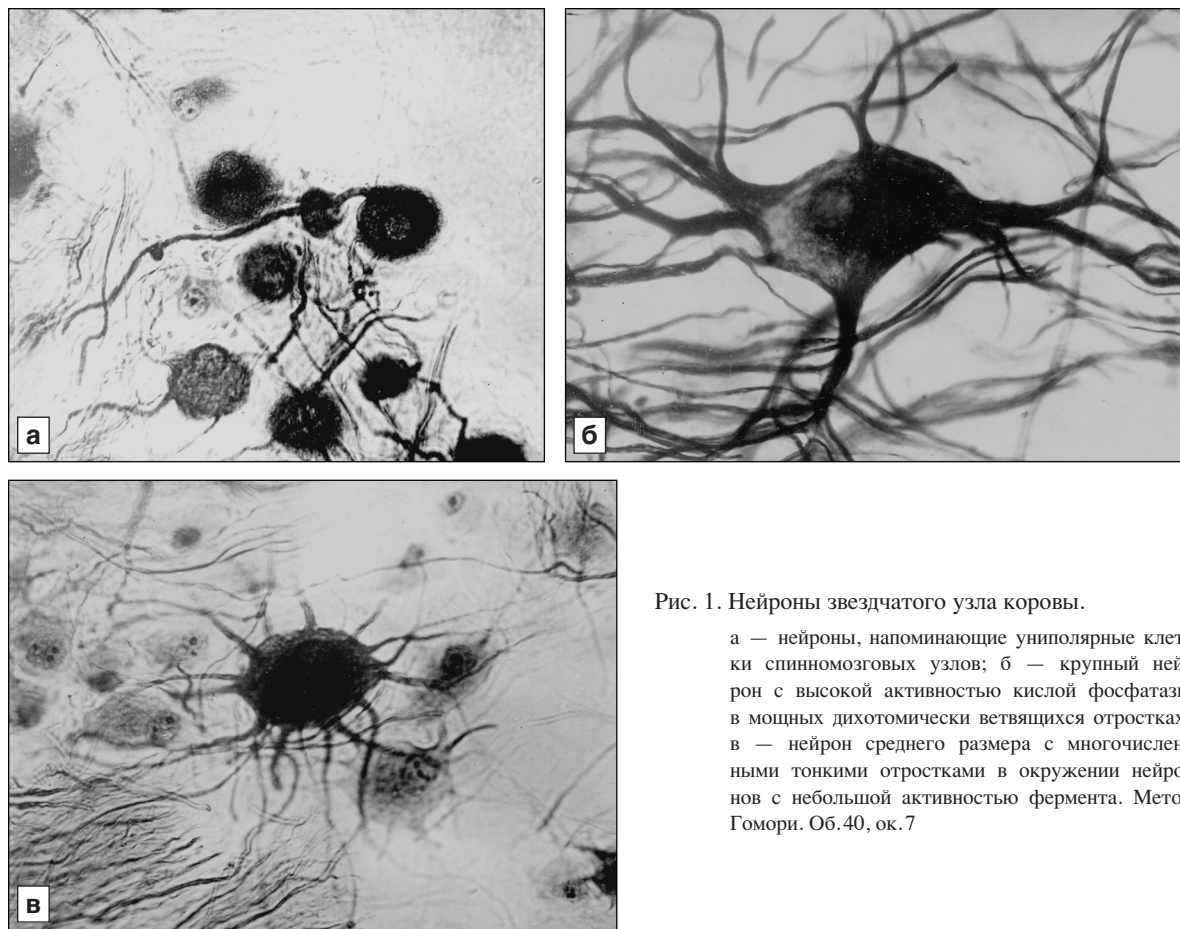


Рис. 1. Нейроны звездчатого узла коровы.

а — нейроны, напоминающие униполярные клетки спинномозговых узлов; б — крупный нейрон с высокой активностью кислой фосфатазы в мощных дихотомически ветвящихся отростках; в — нейрон среднего размера с многочисленными тонкими отростками в окружении нейронов с небольшой активностью фермента. Метод Гомори. Об.40, ок.7

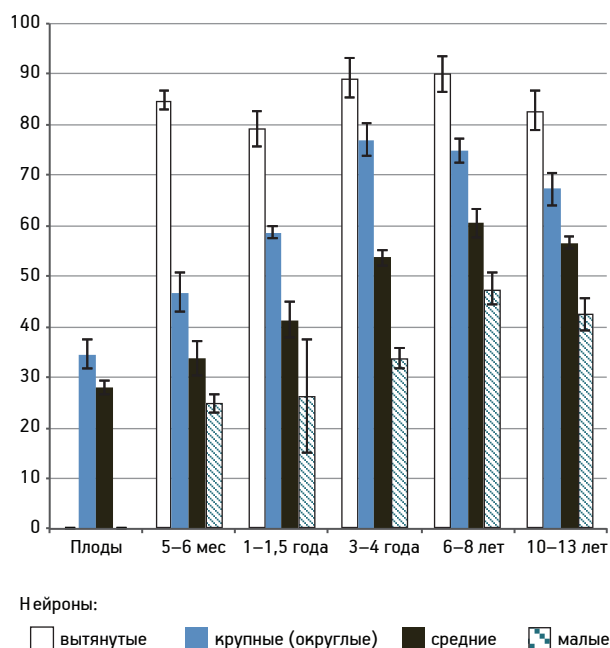


Рис. 2. Динамика изменений размеров нейронов звездчатого узла у коров с возрастом.

По оси абсцисс — возраст животных; по оси ординат — размеры клеток (мкм). Вертикальные отрезки — значения стандартной ошибки

У плодов, возможно, из-за низкой активности КФ иногда отростки нейронов не выявлялись. В узлах у молодых животных изредка встречались нейроны, напоминающие псевдоуниполярные нейроны чувствительных узлов спинномозговых нервов (см. рис. 1, а). Большинство нейронов в узлах у половозрелых животных имели округлую форму, реже — грушевидную, по периферии встречались удлинённые клетки. Размеры нейронов в узле широко варьировали, их можно было подразделить на крупные, средние и мелкие: $75 \pm 2,5$, $60,5 \pm 2,8$ и 48 ± 4 мкм соответственно. Были отмечены самые крупные нейроны до 95 мкм, средние — до 75 мкм, мелкие — 40 мкм. Размеры нейронов менялись с увеличением возраста животных: сначала их величина во всех группах возрастала, а с 13 лет отмечалась тенденция к ее уменьшению (рис. 2). Аналогично изменялся и размер ядер. У половозрелых животных ядра нейронов, как правило, содержали одно ядрышко, расположенное в центре или эксцентрично, у 6-месячных животных могут иметься 2–3 ядрышка. В возрасте 6 мес и 1,5 лет нередко встречались двуядерные нейроны.

Активность КФ в нейронах звездчатого узла была не одинакова и в определенной мере зависела от размера клетки. У молодых животных

и в период их высокой продуктивности нейроны небольших размеров (см. рис. 1, в), как правило, имели слабую (2–3 балла) или реже — негативную реакцию. В крупных нейронах практически постоянно обнаруживалась высокая активность КФ (4–5 баллов). При этом локализация фермента внутри клетки могла быть различной. Чаще всего все тело клетки целиком вместе с отростками окрашивалось в темный цвет (5 баллов). Встречались нейроны, у которых часть цитоплазмы оставалась негативной, но при этом их отростки имели высокую активность КФ (см. рис. 1, б). У плодов в цитоплазме нейронов звездчатого узла активность КФ была низкая, поэтому их отростки выявлялись плохо. В то же время, все ядерные структуры, как и у взрослых животных, обнаруживали фермент в большом количестве. У молодых животных в возрасте 1 года встречались относительно крупные нейроны, которые имели большое количество коротких отростков, со слабой активностью фермента (2–3 балла). Отростки быстро истончались и заканчивались вблизи тела нейрона. Часто также встречались мелкие нейроны с небольшой активностью КФ (2–3 балла). У взрослых животных отростки нейронов были весьма разнообразны. Они различались по количеству (от 1 до 14), степени разветвленности, диаметру. Чем меньше диаметр, тем больше могло быть отростков. Большое число мелких, тонких отростков наблюдалось у нейронов среднего размера. Крупные нейроны имели мощные, но реже расположенные отростки, которые равномерно отходили от тела клетки или сосредоточивались у его концов. В последнем случае они могли быть ориентированы в одном направлении. Ветвление отростков было преимущественно дихотомическое, происходило либо вблизи от тела клетки, либо на некотором удалении от него (см. рис. 1, б). Крупные отростки, как правило, обладали высокой активностью фермента (4–5 баллов) независимо от мест его отхождения от тела клетки.

Характерной особенностью звездчатого узла являлось присутствие структур в виде обильно ветвящихся и сложно переплетенных отростков, которые можно было встретить и у плодов, и у молодых животных. Они могли быть образованы одной клеткой. В таких случаях тонкие отростки могли обвивать тело своего нейрона или, интенсивно ветвясь, скапливаться в непосредственной близости от него (рис. 3, а, б). При этом активность КФ чаще всего была высокой (до 5 баллов).

Такие моноцеллюлярные клубки встречались редко. Чаще обнаруживались более крупные сплетения отростков, в образовании которых уча-

ствовали от 2 до 20 нейронов. При этом ветвление отростков бывало настолько обильным, а их переплетение плотным и сложным, что проследить их начало и дальнейшую судьбу не представлялось возможным. В некоторых случаях в таких сплетениях удавалось выявить высокоактивные нервные окончания. Сплетения могли образовываться крупными, толстыми отростками с очень высокой активностью КФ (см. рис. 3, в). Имелись также паутинообразные сплетения, образованные тонкими отростками с положительной реакцией на КФ (см. рис. 3, г).

На телах нейронов, как и на переплетенных их отростках, выявлялись единичные или множественные синаптические окончания, демонстрировавшие очень высокую активность КФ (5 баллов). У молодых животных встречались гроздьевидные их формы, образующиеся в результате множественного ветвления концевых отделов отростков (рис. 4, а).

Как правило, синаптические структуры имели небольшой размер, но изредка встречались и гипертрофированные их формы, также обладавшие весьма высокой активностью фермента (см. рис. 4, б). Помимо синаптических окончаний, в звездчатом узле находились растущие отростки, о чем свидетельствовали расположенные между нейронами крупные колбы роста (см. рис. 4, в, г), также обладавшие высокой активностью КФ (до 5 баллов). Значительное место в звездчатом узле занимали формирующиеся здесь и проходившие в разном направлении пучки нервных волокон. Пучки достигали больших размеров и состояли из ориентированных в одном направлении нервных волокон с высокой активностью фермента (4–5 баллов). Местами в составе таких пучков наблюдались единичные или небольшие скопления нейронов с весьма высокой активностью КФ (4–5 баллов).

Анализ распределения активности КФ по возрастным группам животных показал, что максимальное количество КФ-позитивных нейронов отмечалось в группе молодых (от 0,6 мес до 3 лет) и половозрелых животных (6–8 лет). У молодых животных КФ-позитивные нейроны были всех размеров. При этом крупные нейроны в подавляющем большинстве проявляли максимальную 5- и реже 4-балльную реакцию. Нейроны средних размеров, составляющие большую часть клеток ганглия, в большинстве своем демонстрировали более слабую активность КФ (3–4 балла). Мелкие нейроны в основном обладали низкой активностью фермента (2 балла).

У половозрелых животных наибольшая активность КФ выявлялась как в крупных, так и в сред-

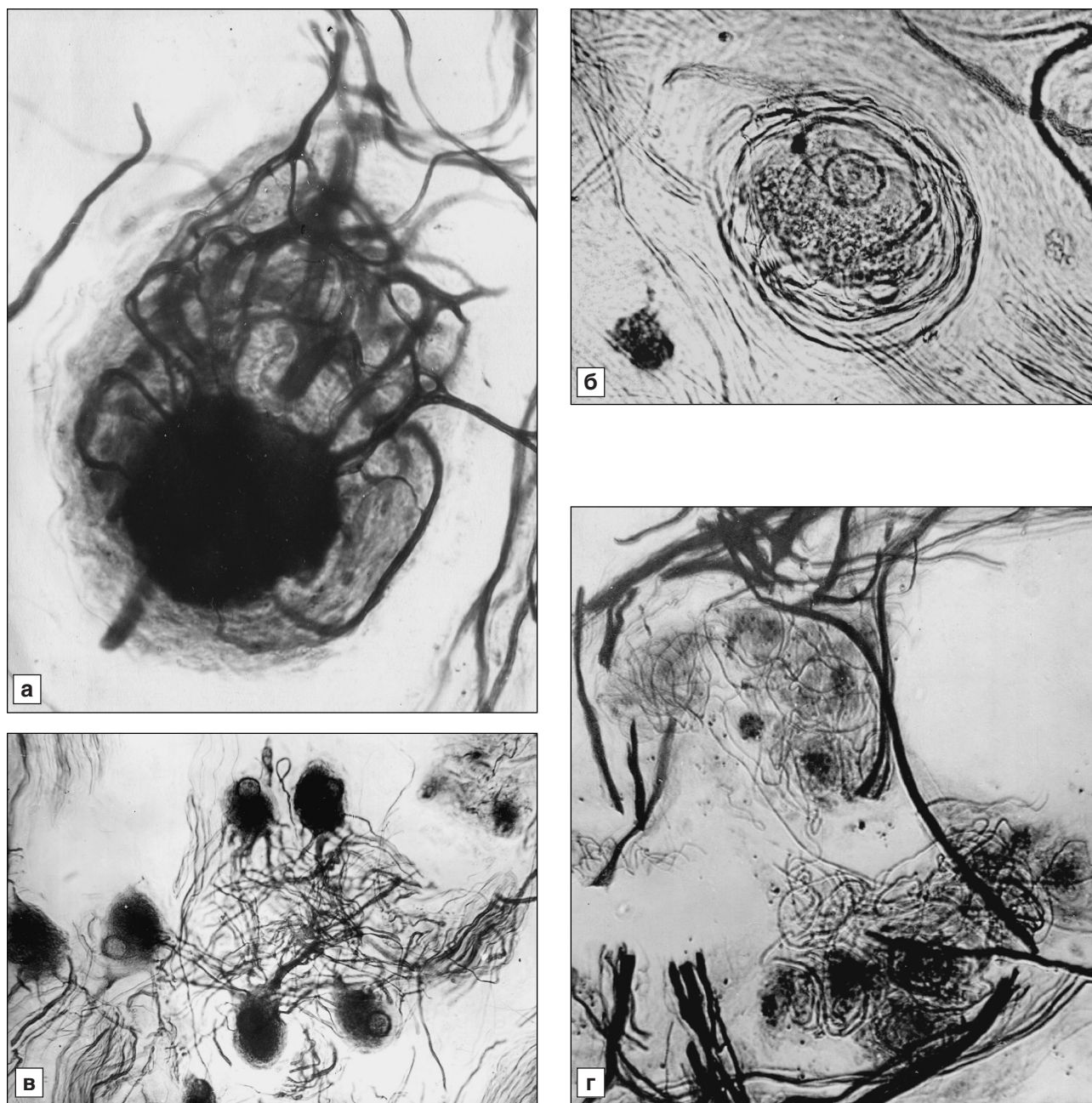


Рис. 3. Сплетения отростков, отходящих от нейронов, в звездчатом узле коровы 12 (а), 13 лет (б), 1 года (в) и 10 лет (г).

а — сплетение отростков крупного нейрона с очень высокой активностью кислой фосфатазы (КФ); б — отростки, обвивающие тело нейрона, со слабой активностью КФ; на поверхности клетки расположено синаптическое окончание; в — сплетение отростков, образованное группой нейронов с высокой активностью КФ; г — плотное сплетение тонких отростков группы нейронов со слабой активностью КФ. Метод Гомори. Об.40, ок. 7

ней величины нейронах (4–5 баллов). Мелкие нейроны были малоактивны (2–3 балла), но при этом отмечалось некоторое увеличение их размеров (см. рис. 2).

Старые животные (10–13 лет) характеризовались тем, что среди крупных нейронов в ганглии увеличивалось число клеток со слабой реакцией на КФ (1–2 балла), но при этом возрастало количество мелких нейронов с довольно высокой его активностью (до 4 баллов).

Обсуждение полученных данных. Изучение строения нейронов звездчатого узла у коров разных возрастных групп показало, что динамика изменения величины нейронов с возрастом в целом соответствует описанной у человека [3]. Разница в показателях размеров нейронов может быть связана с особенностями изучаемого материала, использованием разных способов измерения клеток, обработки ткани и изготовления препаратов. Увеличение межклеточного про-

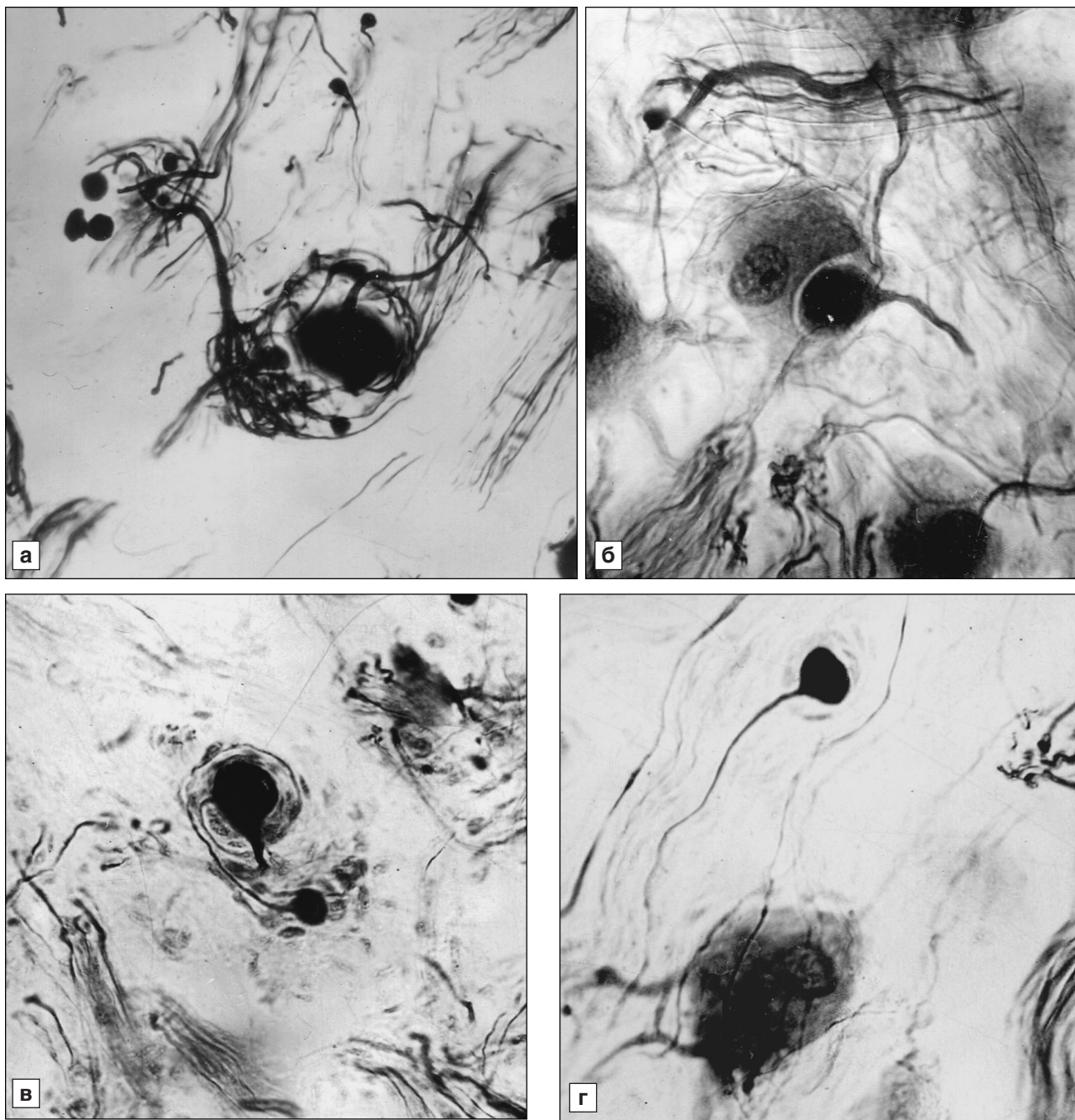


Рис. 4. Нервные окончания в звездчатом узле коровы.

а — многочисленные синаптические окончания в области разветвленных концевых отделов отростков нейронов у коровы 1 года; б — гипертрофированное нервное окончание, контактирующее с телом нейрона у коровы 1 года; в — небольшие и крупные колбы роста, направленные в противоположные стороны; г — колба роста среднего размера, расположенная в соединительнотканной строме узла. Метод Гомори. а — об.8, ок.15; б–г — об.40, ок.7

странства в узлах с возрастом, наблюдаемого как у человека, так и у животных [3, 5], может быть связано не только с развитием соединительнотканной стромы узла, но частично и с нарастанием массы нервных отростков, рост которых отмечается во всех возрастных группах. Это могут быть дендриты, устанавливающие новые межнейрональные связи в виде сложных переплетений, и аксоны, направленный рост которых осуществ-

ляется с помощью специфических регуляторных белков [8].

Высокая активность КФ в колбах роста и синаптических структурах нейронов свидетельствует о высоком уровне метаболизма в этих образованиях, активной их деятельностью, сопровождающейся потреблением большого количества энергии, вырабатываемой с помощью фермента [1, 7]. Несмотря на отмеченные изменения актив-

ности КФ, наблюдаемые в экспериментах [1], существуют данные, свидетельствующие, что даже некоторые сильные внешние воздействия на организм могут не оказывать влияния на ее активность [6]. Так как КФ является важнейшим ферментом, расщепляющим макроэргические фосфорные соединения (разлагает сложноэфирные связи в моноэфирах фосфорной кислоты с образованием свободного ортофосфата) с высвобождением большого количества энергии [5, 7], можно полагать, что крупные нейроны звездчатого узла с высокой активностью фермента находятся в состоянии постоянного функционирования. Иногда отростки этих нейронов образуют мощные высокоактивные сплетения, роль которых не совсем ясна. Возможно, они являются местами, где осуществляется индукция сигналов или аккумулируются энергетические возможности нейронов или их групп на случай экстренной необходимости. Наличие на таких сплетениях синаптических структур свидетельствует об их связях с другими нейронами и о возможности передачи сигналов от отдаленно расположенных клеток. Как показали наши исследования, возрастное уменьшение размеров нейронов (10–13 лет) сопровождается снижением активности КФ в основной массе клеток исследованных узлов.

Таким образом, звездчатый узел у коров представляет собой сложное компактное образование, в котором располагаются крупные, средние и небольшие нейроны с разной активностью КФ, свидетельствующей об уровне их метаболизма и функциональной активности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агеев А. К. Гистохимия щелочной и кислой фосфатаз человека в норме и патологии. Л.: Медицина, 1969.
2. Гореликов П. Л. Роль холинэргической синаптической активности в энергетическом гомеостазе краниального шейного симпатического ганглия // Клини. и эксперим. морфол. 2014. № 4. С. 44–48.
3. Жаботинский Ю. М. Нормальная и патологическая морфология вегетативных ганглиев. М.: Изд-во Акад. мед. наук СССР, 1953.
4. Луппа Х. Основы гистохимии. М.: Мир, 1980.
5. Ноздрачев А. Д., Фатеев М. М. Звездчатый ганглий. СПб.: Наука, 2002.
6. Трухачев А. Н. Морфофункциональное состояние сенсорной коры при неравномерном электромагнитном облучении: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Ярославль, 2009.
7. Диксон М., Уэбб Э. Ферменты. М.: Мир, 1982. Т. 1.
8. Lilienbaum A., Israel A. From calcium to NF-kappa and signaling pathways in neurons // Mol. Cell. Biol. 2003. Vol. 23, № 8. P. 2680–2698.
9. Wolf A., Kabath E. A., Newman W. Histochemical studies on tissues enzymes. III. A study of the distribution of acid phosphatases with special reference to the nervous system // Am. J. Pathol. 1943. Vol. 19. P. 423–439.

Поступила в редакцию 17.08.2016

Получена после доработки 12.01.2017

ACID PHOSPHATASE ACTIVITY AND STRUCTURE OF NEURONS IN THE STELLATE GANGLION IN CATTLE

G. G. Aminova

The stellate ganglion was studied in bovine fetuses ($n=2$) and cows of different ages (6 months — 13 years; $n=30$) using Gomori's histochemical method of acid phosphatase (AP) activity demonstration. Ganglion is a compact formation containing large, medium and small neurons with different AP activity and complicated interrelations of cell processes. With postnatal age until 13 years, there was an increase in the size of neurons, followed by a decrease after 13 years. The cells and their processes had different enzyme activity. In the fetus, the activity of the enzyme was low. In adult mature animals, the highest AP activity was demonstrated in large neurons. Processes of some neurons formed dense plexuses with high AP activity. The stellate ganglion often contained highly active growth cones and synaptic endings. Different AP activity reflects the differences in the metabolic level of neurons and may be related to the variations in their functional activity.

Key words: stellate ganglion, neurons, acid phosphatase

Laboratory of Functional Anatomy, Research Institute of Human Morphology, Moscow