

© Е. И. Чумасов, Е. С. Петрова, Д. Э. Коржевский, 2018
УДК 611.839.21:612.65:599.323.4

Е. И. Чумасов^{1, 2}, Е. С. Петрова¹, Д. Э. Коржевский^{1, 3}

РАЗВИТИЕ СУБЭПИКАРДИАЛЬНОГО НЕРВНОГО СПЛЕТЕНИЯ У КРЫСЫ В ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

¹ Лаборатория функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы (зав. — проф. РАН Д. Э. Коржевский), ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург;

² кафедра биологии, экологии и гистологии (зав. — доц. В. С. Иванов), ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»; ³ кафедра фундаментальных проблем медицины и медицинских технологий (зав. — проф. А. Н. Суворов), ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»

Цель — изучение формирования субэпикардиального нервного сплетения на разных стадиях постнатального развития крысы, выяснение медиаторной природы его нервных волокон и исследование взаимосвязи нервных структур и кровеносных сосудов эпикарда.

Материал и методы. Исследованы состав нервных ганглиев и медиаторная природа нервных волокон субэпикардиального нервного сплетения у новорожденных, 2-недельных, 1- и 3-месячных крыс Вистар (16 наблюдений). Для выявления нервных образований применяли иммуногистохимические методики определения нейрального маркера PGP 9.5, а также синаптофизина и тирозингидроксилазы для изучения локализации синаптических везикул и катехоламинергических структур.

Результаты. Показано, что в околосердечной области у новорожденных крыс уже имеются хорошо сформированные ганглии, микроганглии, нервные сплетения из смешанных парасимпатических и симпатических пучков, а также скопления хромаффинных клеток, при этом парасимпатические элементы преобладают над симпатическими. Впервые у новорожденной крысы в субэпикардиальном слое обнаружено формирующееся нервное сплетение из пучков безмиелиновых парасимпатических волокон. Установлено, что эпителиальные клетки эпикарда на ранних стадиях развития временно экспрессируют белок PGP 9.5. У 2–4-недельных крыс эпителий эпикарда утрачивает PGP 9.5-иммунореактивность. У 3-месячных крыс нервные сплетения в различных отделах сердца достигают дефинитивного строения.

Выводы. В постнатальном онтогенезе взаимоотношения между субэпикардиальным нервным сплетением и подлежащей соединительной тканью формируются гетерохронно, что характерно также для различных отделов сердца крысы. Они проходят через стадию формирования у новорожденных субэпикардиального сплетения, состоящего, преимущественно, из безмиелиновых парасимпатических аксонов.

Ключевые слова: сердце, субэпикардиальное нервное сплетение, белок PGP 9.5, синаптофизин, тирозингидроксилаза

Сердце млекопитающих и особенно человека является одним из наиболее иннервированных органов. Не зря сложный комплекс нервных аппаратов сердца иногда называют «маленьким мозгом» [4, 6]. В последние десятилетия с внедрением в нейробиологии новых более точных и прецизионных методов нейроиммуногистохимического (НИГХ) анализа все больше внимания уделяется вопросам структурной организации нервных сплетений сердца у млекопитающих. Ранее три нервных сплетения были описаны НИГХ-методами в миокарде левого желудочка у человека и в эпикарде (ЭП), миокарде и эндокарде у крысы [2, 3]. По современным данным, число внутрисердечных нервных сплетений достигает 5–7 в зависимости от топографии эпикарда, числа ганглиев, биохимического статуса нейронов, наличия немиелинизированных и миелинизированных нервных волокон и окончаний [5, 8, 9]. Иннервация сердца из-

учается на протяжении многих десятилетий, однако вопросы, касающиеся развития нервных сплетений сердца в онтогенезе, нейромедиаторной природы аксонов парасимпатической и симпатической нервной системы и другие, остаются малоизученными. Нерешенным является вопрос о возможном регуляторном влиянии нервных элементов на васкуляризацию и неогенез сосудов сердца.

Целью настоящей работы явилось изучение формирования нервных сплетений, выяснение медиаторной природы их нервных волокон и исследование взаимосвязи нервных структур и кровеносных сосудов ЭП на разных стадиях постнатального развития крысы.

Материал и методы. Работа выполнена на крысах линии Вистар разного возраста, а именно: 1-го (P1), 14-го (P14), 30-го (P30) дней постнатального развития и половозрелых 3-месячных крысах (всего 16 наблюдений). В ходе эксперимента соблюдали международные правила Хельсинкской

Сведения об авторах:

Чумасов Евгений Иванович, Петрова Елена Сергеевна, Коржевский Дмитрий Эдуардович (e-mail: dek2@yandex.ru), лаборатория функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12

декларации о гуманном обращении с животными и «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ № 775 от 12.08.1977 г. МЗ СССР). Данное исследование имеет положительное заключение локального этического комитета ФГБНУ «ИЭМ» (№ 3–17 от 30.11.2017 г.). Животных выводили из эксперимента парами этилового эфира, выделяли сердце и околосердечную область и фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде. После заливки в парафин изготавливали срезы толщиной 5–7 мкм. Часть срезов окрашивали толуидиновым синим по Нисслю и гематоксилином — эозином. Для иммуногистохимического выявления синаптофизина (Syn), являющегося специфическим белком синаптических везикул, использовали поликлональные кроличьи антитела (разведение производителя; MONOSAN, Нидерланды). Для идентификации катехоламинергических структур применяли поликлональные кроличьи антитела к тирозингидроксилазе (TH) (1:1000, Abscam, Великобритания). Нервные стволы и пучки нервных сплетений, а также нервные клетки без учета их медиаторной специфики выявляли с помощью иммуногистохимического маркирования белка PGP 9.5 — широко используемого нейрального маркера [1]. Для этого применяли поликлональные кроличьи антитела (1:200, Spring Bioscience, США). В качестве вторичных реагентов использовали реактивы из наборов EnVision+ SystemLabelledPolymer-HRP Anti-Mouse (Dako, Дания) и Reveal Polyvalent HRP/DAB Detection System kit (SpringBioscience, США) — так называемую пероксидазную метку. Для визуализации продукта иммуноцитохимической реакции использовали хромоген DAB+ (Dako, Дания). Для иммуногистохимических реакций проводился отрицательный контроль с нанесением на срезы вместо первичных антител их разбавителя (Dako, Дания).

Результаты исследования. Анализ срезов, сделанных через все сердце новорожденной крысы, после выявления нейронального маркера белка PGP 9.5 показал неравномерное распределение нервных структур (рис. 1).

У новорожденной крысы основная их масса сосредоточена вне органа в области корней или основания магистральных сосудов, а меньшая — представлена развивающимся внутриорганным эпикардальным сплетением. В межорганной рыхлой соединительной ткани и развивающейся жировой клетчатке постоянно обнаруживаются 1–2 относительно крупных (от 200 до 350 мкм) ганглиев округлой или неправильной формы, расположенных между стволом аорты, правым ушком сердца и легочной артерией. Микроганглии, тяжи и группы нервных клеток (НК) встречаются на задней стенке венозного синуса, в основании краниальной и каудальной полых вен, а также на задней стенке левого предсердия в области легочных вен. Ганглии состоят из компактно расположенных НК и небольшого числа нейробластов диаметром 13,5–20 мкм (рис. 2, а, б).

Через 2 нед размеры НК увеличиваются почти в 2 раза. Вокруг тел некоторых из них с помощью реакции на Syn обнаруживаются перичеслю-

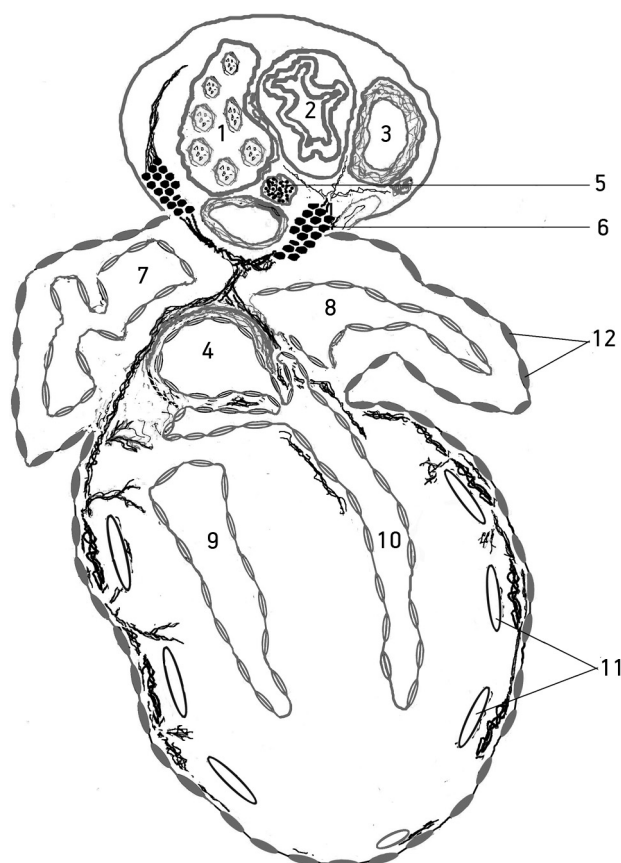


Рис. 1. Реконструкция расположения нервных аппаратов в сердце у новорожденной крысы (P1) на срезе через весь орган (схема).

1 — трахея; 2 — пищевод; 3 — легочная артерия; 4 — аорта; 5 — вагосимпатический ствол; 6 — ганглии; 7 — правое предсердие; 8 — левое предсердие; 9 — правый желудочек; 10 — левый желудочек; 11 — капилляры; 12 — эпителий эпикарда. Черным цветом выделены ганглии и формирующееся субэпикардальное нервное сплетение. Использован препарат с нейроиммуногистохимической реакцией на PGP 9.5

лярные синаптические аппараты, образованные преганглионарными парасимпатическими нервными волокнами (см. рис. 2, б). На поперечных срезах между аортой и легочной артериями часто встречаются фрагменты вагосимпатического ствола. Отходящие от него многочисленные пучки нервных волокон объединяются с пучками аксонов НК интрамуральных узлов, и в результате образуются смешанного типа нервные сплетения вокруг стенок магистральных сосудов околосердечной области. Вблизи ганглиев и нервных пучков, а иногда и внутри них обнаруживаются небольшие скопления мелких гранулярных клеток, представляющих собой нейроэндокринные хромоаффинные клетки (ХК) (см. рис. 2, б, в).

С помощью реакции на TH были избирательно выявлены также и симпатoadреналовые компоненты сердца. Одни из них представлены симпатическими волокнами, встречающимися

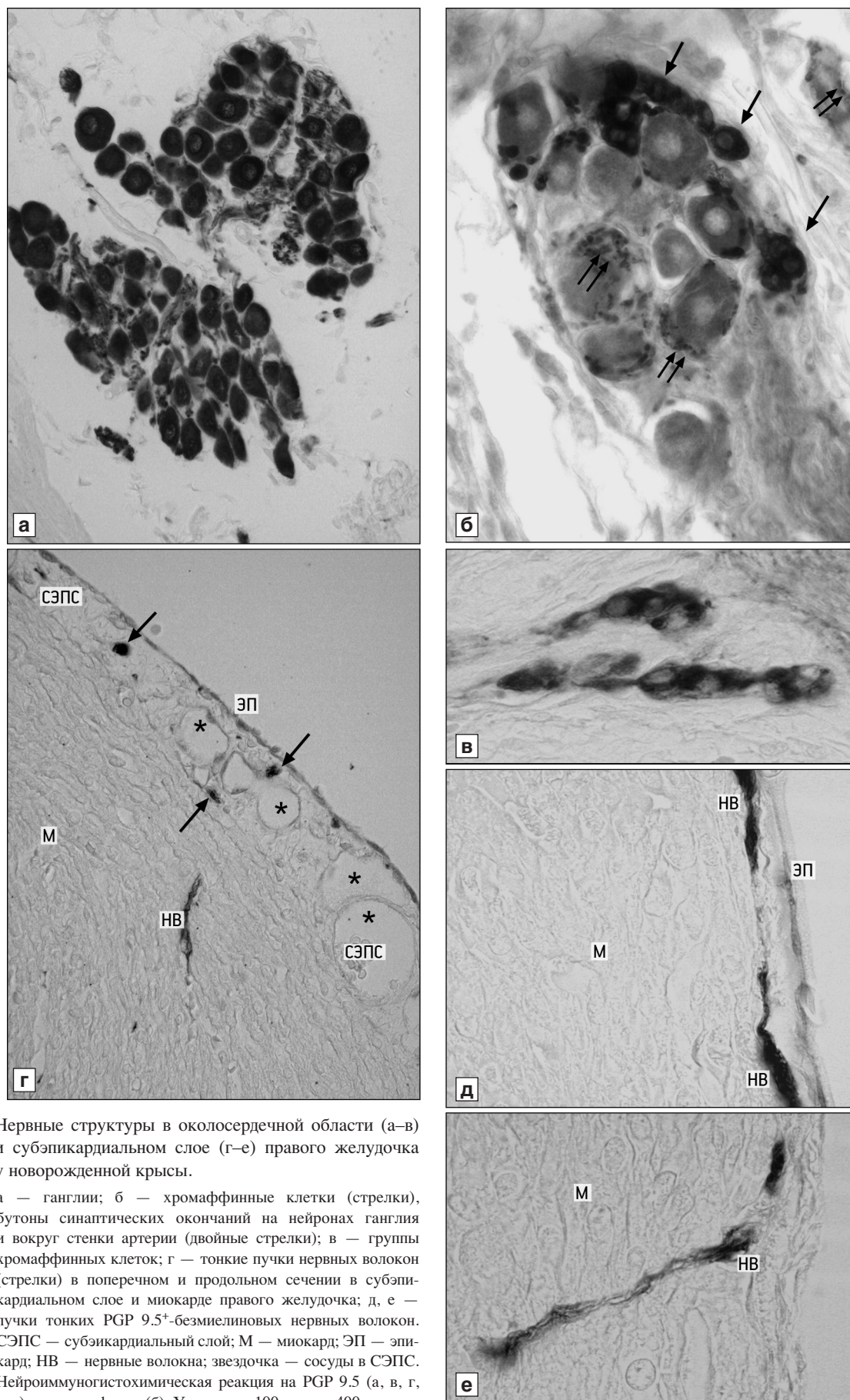


Рис. 2. Нервные структуры в околосердечной области (а–в) и субэпикардальном слое (г–е) правого желудочка у новорожденной крысы.

а — ганглии; б — хромаффинные клетки (стрелки), бутоны синаптических окончаний на нейронах ганглия и вокруг стенки артерии (двойные стрелки); в — группы хромаффинных клеток; г — тонкие пучки нервных волокон (стрелки) в поперечном и продольном сечении в субэпикардальном слое и миокарде правого желудочка; д, е — пучки тонких PGP 9.5⁺-безмиелиновых нервных волокон. СЭПС — субэпикардальный слой; М — миокард; ЭП — эпикард; НВ — нервные волокна; звездочка — сосуды в СЭПС. Нейроиммуногистохимическая реакция на PGP 9.5 (а, в, г, д, е) и синаптофизин (б). Ув.: а–в — 100; г–е — 400

по отдельности или в составе пучков различного диаметра смешанного типа в основном сплетении, расположенном в межорганный соединительной ткани. Еще одним TH^+ -компонентом, нередко присутствующим в этой области сердца, являются ХК, способные синтезировать катехоламины (адреналин, норадреналин, дофамин). Симпатические ганглии в околосердечной области сердца практически отсутствовали, но изредка встречались небольшие группы TH^+ -нейронов.

У новорожденных крыс иннервация тканей самого сердца, включая предсердия и желудочки, была слабо выражена. Большая часть тонких PGP 9.5^+ -нервных пучков, берущих начало от нервного сплетения на границе ушек и желудочков, выявлялась на поверхности развивающегося сердца.

Применение иммуногистохимической реакции на PGP 9.5 позволило установить, что на данной стадии онтогенеза клетки однослойного плоского эпителия ЭП (или проэпикарда) содержат этот нейтральный маркер. На препаратах видно, что между эпителием и развивающимся миокардом находится субэпикардиальный слой, толщина которого варьирует на протяжении всего периметра сердца. Внутри субэпикардиального слоя встречаются фибробластоподобные клетки, а также многочисленные венозные сосуды с широкими просветами разной формы, выстланные эндотелиальными клетками (см. рис. 2, г, е). Некоторые из сосудов заполнены эритроцитами. Эти картины свидетельствуют о продолжающемся у новорожденных крыс процессе формирования кровеносных сосудов. Как видно на рис. 2, г, в области миокарда они еще отсутствуют.

С помощью реакции на белок PGP 9.5 на всех срезах непосредственно под эпителием ЭП обнаруживали развивающееся нервное сплетение (см. рис. 1; 2, г–е). Нервные волокна в его составе окрашивались в черный цвет и отличались от PGP 9.5^+ -клеток эпителия эпикарда. Последние окрашивались в коричневый цвет и располагались на самой поверхности сердца. Нервное сплетение локализуется в субэпикардиальном слое, там же, где формируются венозные сосуды. Фрагменты тончайших пучков немиелинизированных аксонов этого сплетения находились вблизи эпителия и новообразующихся венозных сосудов. Узкопетлистая часть эпикардиального нервного сплетения занимала приблизительно $2/3$ поверхности основания обоих желудочков, а более разреженная широкопетлистая часть располагалась в направлении к верхушке сердца (см. рис. 1).

При использовании двух иммуногистохимических реакций (на PGP 9.5 и TH) удалось обнару-

жить волокна различной медиаторной природы. Большинство аксонов субэпикардиального нервного сплетения, так же как и ганглии околосердечной области, у новорожденных крыс являются PGP 9.5^+ , тогда как TH^+ -симпатические нервные волокна встречаются редко. Это свидетельствует о том, что большинство нервных структур сердца у новорожденных относятся к холинергическим парасимпатическим элементам автономной нервной системы.

Иннервация миокарда предсердий и желудочков у новорожденных крыс еще слабо выражена. Немногочисленные тонкие пучки холинергических аксонов обнаруживались в периферической части миокарда ближе к ЭП. В глубине миокарда правого желудочка среди кардиомиоцитов находились малочисленные Syn^+ -терминали (рис. 3, б). Что касается симпатической иннервации, с помощью реакции на TH изредка удавалось

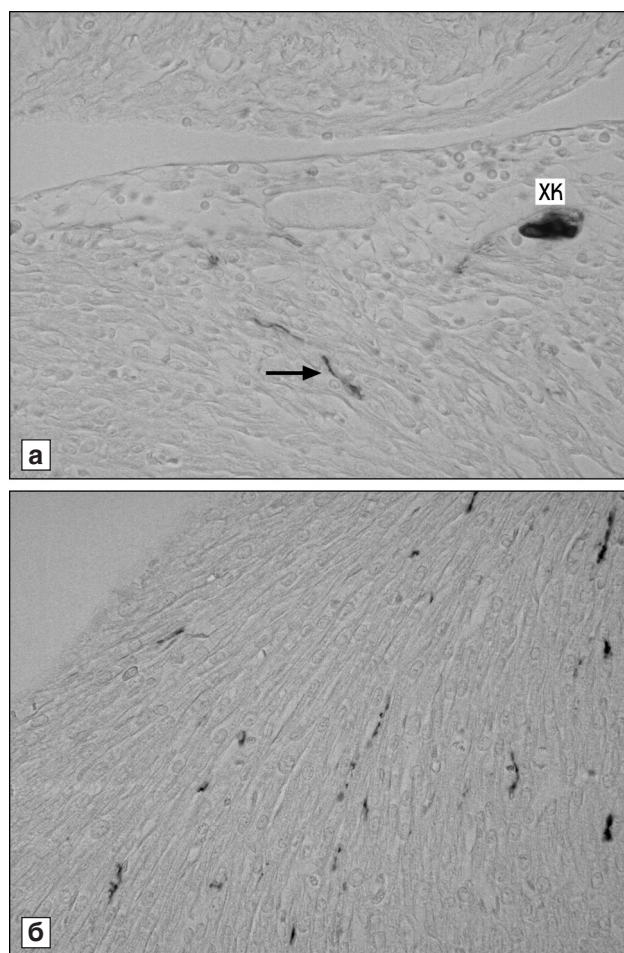


Рис. 3. Нервные элементы в миокарде у 2-недельной крысы (P14).

а — фрагменты тонкого нервного пучка (стрелка) TH^+ -аксонов и группа хромоафинных клеток (ХК) в миокарде правого желудочка; б — диффузно расположенные синаптофизин-положительные синаптические терминали в миокарде желудочка. Нейроиммуногистохимическая реакция на тирозингидроксилазу (а) и синаптофизин (б). Ув. 400

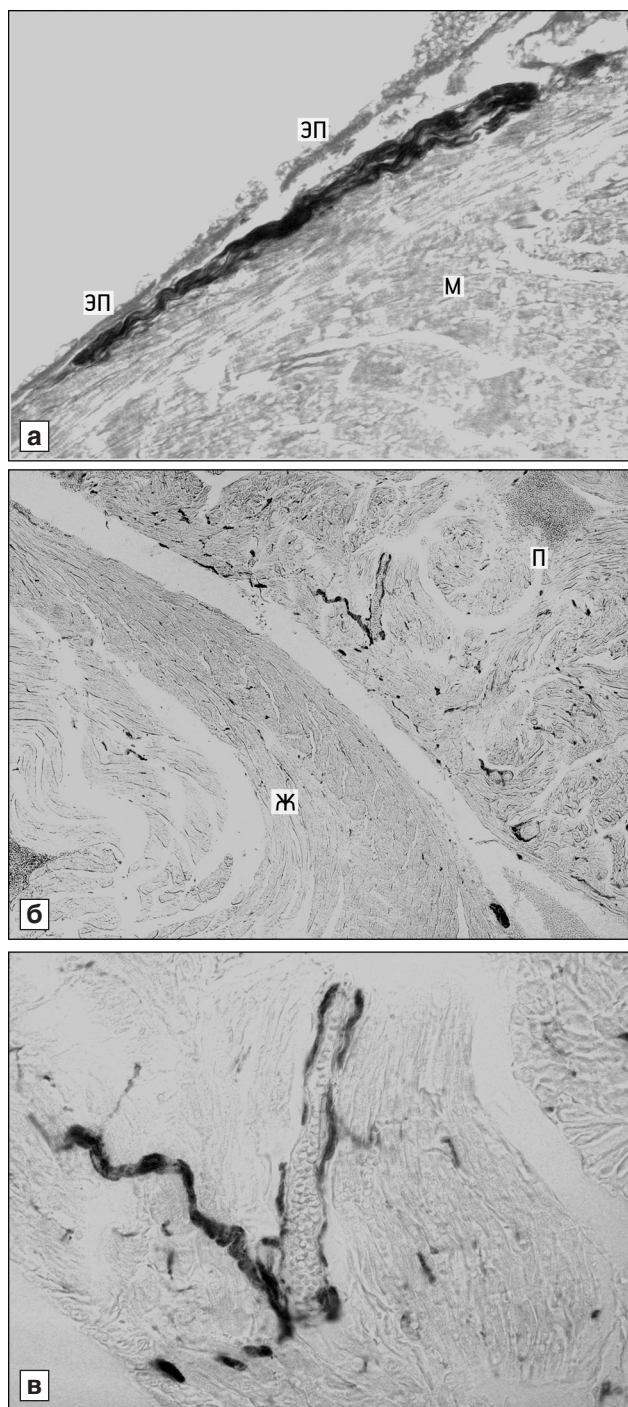


Рис. 4. Иннервация миокарда сердца у 3-месячной крысы.

а — нервный пучок в эпикарде желудочка; б — PGP 9.5⁺-терминальные нервные сплетения в миокарде желудочка и предсердия; в — терминальная сеть аксонов вокруг артериолы (фрагмент рис. б). М — миокард; Ж — желудочек; П — предсердие; ЭП — эпикард. Нейроиммуногистохимическая реакция на PGP 9.5. Ув.: а, в — 400; б — 100

обнаружить единичные тонкие пучки аксонов и небольшие группки (2–3) ХК в верхней части правого и левого желудочков вблизи предсердий (см. рис. 3, а).

В этот же срок в околосердечной области в развивающейся парааортальной жировой клет-

чатке симпатические волокна и их терминали четко идентифицировались вокруг артериол.

У крыс на стадиях развития P14 и P30 PGP 9.5⁺-иммунореактивность эпителия ЭП постепенно ослабевала и через 3 мес полностью исчезала. У 3-месячных крыс субэпикардиальный слой отсутствовал. Между эпителием ЭП и дифференцированным миокардом устанавливались типичные для дефинитивного сердца межтканевые взаимоотношения (рис. 4).

В миокарде среди зрелых исчерченных пучков кардиомиоцитов, кроме венозных капилляров с широкими просветами (сосудов синусоидного типа, стенка которых представлена одним только слоем эндотелия), наблюдались артериолы, а также мелкие и средние артерии. Через 3 мес стенки артерий и вен окружались густой сетью PGP 9.5⁺- и TH⁺-аксонов и их окончаний. Миокард сердца оказывался пронизанным трехмерной сетью нервно-сосудистых сплетений.

Обсуждение полученных данных. Результаты настоящей работы, полученные с помощью специальных маркеров (белок PGP 9.5 и TH), подтвердили, что у новорожденных животных (P1) основная масса нейронов интрамуральных ганглиев имеют холинергическую природу. Можно предположить, что их постганглионарные парасимпатические безмиелиновые аксоны, обнаруженные у новорожденных в субэпикардиальном сплетении, в период образования сосудов участвуют в процессе васкулогенеза и иннервации миокарда. Затем на поздних сроках вместе с сосудами они проникают с поверхности сердца вглубь желудочков и с симпатическими аксонами участвуют в иннервации сосудов сердца и собственно миокарда. Симпатическая иннервация в тканях миокарда особенно отчетливо обнаруживается через 2 нед после рождения, что по срокам совпадает с появлением зрения у крыс. Аналогичные данные об иннервации сердца у мыши свидетельствуют, что симпатические нейроны в сердечном нервном сплетении составляют только 4%, в то время как холинергические — 82%, а оставшиеся 14% являются «бифенотипическими» [7]. Источником холинергических волокон субэпикардиального сплетения, по-видимому, являются нейроны интрамуральных ганглиев. Приведенные результаты НИГХ-исследования согласуются с данными литературы и результатами собственных наблюдений, полученными ранее [2, 3, 8, 9].

Важной особенностью иннервации сердца у крысы на ранних стадиях постнатального развития является слабое развитие его нервных спле-

тений по сравнению с околосердечной областью. Наличие плотного сплетения из немиелинизированных аксонов в атриовентрикулярном узле миокарда, широкопетлистого сплетения под эпителием эндокарда и фрагментов формирующихся рыхлых сплетений в верхних отделах желудочков свидетельствует о продолжающемся гетерохронном развитии иннервации тканей в различных отделах сердца в постнатальном онтогенезе. В то же время, степень иннервации миокарда и сосудов сердца 1-месячной крысы сравнима с иннервацией сердца у половозрелых 3-месячных животных.

Полученные результаты позволяют высказать некоторые предположения относительно функционального значения одновременной экспрессии PGP 9.5 клетками ЭП и холинергических аксонов субэпикардального слоя. Возможно, на ранних стадиях развития во время формирования сосудов холинергические аксоны субэпикардального нервного сплетения, кроме ацетилхолина, выделяют регуляторный пептид (PGP 9.5). В дальнейшем, в более поздние сроки постнатального развития, за счет врастания в сплетение постганглионарных симпатических и афферентных волокон оно становится смешанным, состоящим из пучков аксонов различной медиаторной природы, и может выполнять эфферентную, сенсорную и нейротрофическую функции.

Таким образом, с помощью иммуногистохимических реакций на белок PGP 9.5, TH и Syn показано, что в околосердечной области у новорожденных крыс уже имеются хорошо сформированные ганглии, микроганглии, нервные сплетения из смешанных парасимпатических и симпатических пучков, а также встречаются скопления ХК. При этом парасимпатические элементы преобладают над симпатическими. Во многих ганглиях на нервных клетках обнаружены перичеселлярные синаптические окончания преганглионарных волокон, что свидетельствует об установлении их связей с центральной нервной системой. В миокарде предсердий и желудочков у новорожденной крысы иннервация еще слабо выражена, однако в субэпикардальном слое впервые обнаружено формирующееся нервное сплетение из пучков безмиелиновых парасимпатических аксонов. Эпителиальные клетки эпикарда на ранних стадиях развития временно экспрессируют белок PGP 9.5, позволяющий селективно выявлять эпителиальный пласт вокруг сердца. Через 2–4 нед после рождения эпителий эпикарда утрачивает свою иммунореактивность, субэпикардальный слой не прослеживается, и через 3 мес устанавливаются характерные для зрелого ЭП взаимо-

отношения между нервным сплетением, подлежащей соединительной тканью и миокардом сердца. Полученные результаты дополняют имеющиеся данные о процессах иннервации развивающегося эпикарда и позволяют сделать предположение об участии клеток ЭП и аксонов формирующегося нервного сплетения в процессе васкуляризации сердца в постнатальный период.

Вклад авторов:

Концепция и дизайн исследования: Е. И. Ч., Д. Э. К.

Сбор и обработка материала: Е. С. П.

Анализ и интерпретация данных: Е. И. Ч., Е. С. П., Д. Э. К.

Написание и редактирование текста: Е. И. Ч., Д. Э. К.

Авторы сообщают об отсутствии в статье конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Коржевский Д. Э., Колос Е. А. Белок PGP 9.5 и его использование в качестве функционального маркера в нейроморфологии // Мед. акад. журнал. 2013. Т. 13, № 4. С. 29–35 [Korzhevsky D. E., Kolos E. A. Protein gene product 9.5 (PGP 9.5) as a functional marker in neuromorphology // Meditsinskii akademicheskii zhurnal. 2013. Vol. 13, № 4. P. 29–35. In Russ.].
2. Чумасов Е. И., Петрова Е. С., Коржевский Д. Э. Иннервация сердца крысы (иммуногистохимическое исследование) // Морфология. 2009. Т. 135, № 2. С. 33–37 [Chumasov E. I., Petrova E. S., Korzhevskii D. E. Heart innervation in rats (an immunohistochemical study) // Morfologiya. 2009. Vol. 135, № 2. P. 33–37. In Russ.].
3. Чумасов Е. И., Петрова Е. С., Сухорукова Е. Г., Коржевский Д. Э. Распределение PGP 9.5-иммунопозитивных нервных волокон в сердце человека // Мед. акад. журнал. 2013. Т. 13, № 1. С. 61–66 [Chumasov E. I., Petrova E. S., Sukhorukova E. G., Korzhevskiy D. E. Distribution of PGP 9.5-immunopositive nerve fibers in human heart // Meditsinskii akademicheskii zhurnal. 2013. Vol. 13, № 1. P. 61–66. In Russ.].
4. Ardell J. L. Intrathoracic neuronal regulation of cardiac function. In: Basic and Clinical Neurocardiology / Ed. Armour J. A., Ardell J. L. New York: Oxford University Press, 2004. P. 118–152.
5. Batulevicius D., Skripka V., Pauziene N., Pauza D. H. Topography of the porcine epicardial nerve plexus as revealed by histochemistry for acetylcholinesterase // Auton. Neurosci. 2008. Vol. 138, № 1–2. P. 64–75.
6. Brack K. E. The heart's 'little brain' controlling cardiac function in the rabbit // Exp. Physiol. 2015. Vol. 100, № 4. P. 348–353.
7. Rysevaite K., Saburkina I., Pauziene N., Vaitkevicius R., Noujaim S. F., Jalife J., Pauza D. H. Immunohistochemical characterization of the intrinsic cardiac neural plexus in whole-mount mouse heart preparations // Heart Rhythm. 2011. Vol. 8, № 5. P. 731–738.
8. Saburkina I., Gukauskienė L., Rysevaite K., Brack K. E., Pauza A. G., Pauziene N., Pauza D. H. Morphological pattern of intrinsic nerve plexus distributed on the rabbit heart and interatrial septum // J. Anat. 2014. Vol. 224, № 5. P. 583–593.
9. Saburkina I., Rysevaite K., Pauziene N., Mischke K., Schauer P., Jalife J., Pauza D. H. Epicardial neural ganglionated plexus of ovine heart: anatomic basis for experimental cardiac

electrophysiology and nerve protective cardiac surgery // Heart Rhythm. 2010. Vol. 7, № 7. P. 942–950.

Поступила в редакцию 06.07.2017

Получена после доработки 24.11.2017

DEVELOPMENT OF RAT SUBEPICARDIAL NERVE PLEXUS IN THE POSTNATAL PERIOD

Ye. I. Chumasov^{1, 2}, Ye. S. Petrova¹,
D. E. Korzhevskiy^{1, 3}

Objective — to study the formation of a subepicardial nerve plexus at different stages of postnatal development in a rat, to examine the nature of neurotransmitters in its nerve fibers and the interrelation of epicardial nervous structures and blood vessels.

Materials and methods. The composition of nerve ganglia and the neurotransmitter nature of nerve fibers in subepicardial nerve plexus was studied in the newborn, 2 weeks, 1 and 3 months-old Wistar rats (a total of 16 observations). For identification of the nervous structures, immunohistochemical techniques were applied that demonstrated PGP 9.5 neural marker of together with the demonstration of synaptophysin tyrosine hydroxylase to characterize the localization of synaptic vesicles and catecholaminergic structures.

Results. It was shown that the pericardiac area of the newborn rats already contained well developed ganglia, microganglia, nerve plexuses formed by the mixture of parasympathetic and

sympathetic bundles, as well as the aggregates of chromaffin cells, with the prevalence of parasympathetic elements over the sympathetic ones. For the first time, the nerve plexus forming from bundles of unmyelinated parasympathetic fibers was detected in a subepicardial layer of a newborn rat. It was found that at the early stages of development, the the epicardial epithelial cells transiently expressed PGP 9.5 protein.

In 2–4 week-old rats the epicardial epithelium lost PGP 9.5 immunoreactivity. In 3 month-old rats, the nerve plexuses in various parts of the heart attained a definitive structure.

Conclusions. During postnatal ontogenesis, the relationship between the subepicardial nerve plexus and the underlying connecting tissue has a heterochronous developmental pattern. This was also found in the various parts of rat heart. They include the stage of formation of subepicardial nerve plexus in the newborns that consists mainly of the unmyelinated parasympathetic axons.

Key words: heart, subepicardial nerve plexus PGP 9.5, protein, synaptophysin, tyrosine hydroxylase

¹ Laboratory of Functional Morphology of Central and Peripheral Nervous System, Institute of Experimental Medicine, 12 Akademika Pavlova Str., St. Petersburg 197376; ² Department of Biology, Ecology and Histology, St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, 5 Chernigivskaya Str., St. Petersburg; ³ Department of Fundamental Problems of Medicine and Medical Technology, Faculty of Dentistry and Medical Technologies, St. Petersburg State University, 7–9 Universitetskaya nab., St. Petersburg 199034