

© Коллектив авторов, 2010
УДК 612.65:611.89:599.323.4

М.Б. Корзина, А.А. Коробкин, О.А. Васильева и П.М. Маслюков

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЗВЕЗДЧАТОГО УЗЛА БЕЛОЙ КРЫСЫ

Кафедра нормальной физиологии с биофизикой (зав. — доц. В.Н. Воловенко), кафедра анатомии человека (зав. — проф. В.В. Шилкин) Ярославской государственной медицинской академии, e-mail: mpm@yuma.ac.ru; e-mail: korzina25@rambler.ru

Цель работы — исследование анатомических особенностей звездчатого узла (ЗУ), морфометрических характеристик его нейронов у крыс разных возрастных групп (новорожденных, 10-, 20-, 30-, 60-, 180-суточных) с использованием анатомических и гистологических методов. Результаты исследования показали, что у крыс с момента рождения присутствуют 3 варианта отхождения ветвей от медиального края ЗУ. Различий между правым и левым узлами не обнаружено. Размеры ЗУ и его нейронов возрастают на протяжении первых 2 мес жизни животного. От момента рождения к 6-месячному возрасту плотность расположения нейронов на срезах уменьшается, число нейронов в ЗУ значимо не меняется. Таким образом, анатомически ЗУ у крыс к моменту рождения сформирован, а размеры и морфометрические характеристики нейронов окончательно стабилизируются ко 2-му месяцу жизни.

Ключевые слова: звездчатый узел, ветви, нейроны, возрастные изменения, крыса.

Среди паравертебральных узлов особое место занимает шейно-грудной (звездчатый) (ЗУ), который известен как центр иннервации органов грудной полости и шеи [11]. Анатомии ЗУ и вариантам отхождения его ветвей посвящены много работ, выполненных в основном на кошке, собаке и человеке [4, 7, 13]. Достаточно хорошо изучены гистологические характеристики нейронов ЗУ кошки и человека. Нейроны узла мультиполярны, наибольшее их число имеют максимальный диаметр 20–40 мкм и площадь сечения 400–700 мкм², хотя встречаются и более крупные нейроны размером 50–60 мкм [2, 5].

Однако имеется мало данных о строении ЗУ и морфометрических параметрах его нейронов как у взрослых крыс, так и у животных ранних возрастных групп [6, 8]. Существуют лишь единичные исследования, отражающие анатомические и гистологические особенности ЗУ в постнатальном онтогенезе у млекопитающих различных видов [5, 9, 10]. В связи с этим, целью данной работы являлось исследование анатомических особенностей ЗУ, морфометрических характеристик его нейронов у крыс в постнатальном онтогенезе.

Материал и методы. Работа выполнена на новорожденных, 10-, 20-, 30-, 60-, 180-суточных крысах (по 5 в каждой возрастной группе). Под глубоким уретановым наркозом (2 г/кг, внутривенно) после препарирования и измерения размеров узлов под контролем бинокулярной лупы (при об. 4, ок. 6) животных перфузировали транскардиально изотоническим раствором хлорида натрия, а затем фиксатором — 4% параформальдегидом на 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,4).

ЗУ с каждой стороны извлекали и помещали в тот же фиксатор на 2 ч при комнатной температуре. Изготавливали серии криостатных срезов толщиной 12 мкм. Для определе-

ния общего количества нейронов использовали Neurotrace 530-615 (красный флюоресцентный краситель по Нисслю, Invitrogen, США). Срезы инкубировали в течение 30 или 40 мин при комнатной температуре с флюоресцентным красителем, разведенным на фосфатно-солевом буфере (ФСБ) (1:100). После однократного промывания в течение 10 мин раствором ФСБ срезы монтировали на предметные стекла.

Дальнейший анализ препаратов проводили при помощи флюоресцентного микроскопа Микмед 2, вариант 12 (ЛОМО, Россия), снабженного соответствующим набором светофильтров и цифровой камерой. Для анализа окрашенных нейронов брали три центральных среза в каждом узле с интервалом приблизительно 0,05 мм. При подсчете учитывали только нейроны с четко идентифицированным ядром. Площадь сечения нейронов и плотность расположения клеток в узле определяли с использованием некоммерческой программы ImageJ.

Для определения общего количества нейронов в ЗУ количество нейронов в 1 мм умножали на объем узла. Количество нейронов в 1 мм³ (N) рассчитывали по формуле Hoff и Rhines [1]: $N = P/D$, где P — плотность расположения (количество) нейронов на срезах узла; D — средний диаметр нейрона. Объем узла вычисляли при помощи компьютерной программы SolidWork, на основании трехмерной конструкции, полученной исходя из значений срезов узла и интервалов между ними. Криостатные срезы узла с интервалом 36 мкм (каждый 3-й срез) фотографировали с использованием цифровой камеры и бинокулярной лупы (при об. 4, ок. 6). Площадь срезов определяли при помощи программы ImageJ.

Для каждого показателя определяли среднее значение и его стандартную ошибку. Для оценки значимости различий использовали дисперсионный анализ (однофакторный ANOVA) и t-критерий Стьюдента. Различия считали значимыми при $P < 0,05$.

Результаты исследования. При исследовании анатомических особенностей и размеров ЗУ, морфологических и морфометрических характеристик его нейронов значимых различий

между правым и левым узлами не выявлено. У всех исследованных животных шейно-грудной узел имел звездчатую форму. С момента рождения у крысят имелись 3 варианта отхождения ветвей от медиального края узла (рисунок). Наиболее часто встречался первый вариант, реже — третий (табл. 1).

Первый вариант — от медиального края ЗУ раздельно отходят краниальная ветвь подключичной петли, каудальная ветвь подключичной петли и каудальный сердечный нерв.

Второй вариант — помимо краниальной подключичной петли, раздельно отходят общий ствол, впоследствии разделяющийся на каудальную ветвь подключичной петли и каудальный сердечный нерв, а также добавочный каудальный сердечный нерв.

Третий вариант — медиальный край отдает две краниальные, каудальную ветви подключичной петли, каудальный сердечный нерв и добавочный каудальный сердечный нерв.

Во всех возрастных группах, кроме новорожденных животных, наблюдались несколько случаев отхождения анастомозирующих ветвей от краниальной или каудальной ветвей подключичной петли к среднему шейному узлу.

На протяжении первых 2 мес постнатального онтогенеза размеры узла возрастали. Длина узла с возрастом увеличивалась меньше, чем в 2 раза, ширина — в 1,5, толщина — в 3 раза. Объем узла возрастал десятикратно (табл. 2).

Средние значения площади сечения и диаметра нейронов увеличивались с момента рождения до 2-го месяца жизни. Параллельно возрастанию размеров происходило снижение средней плотности расположения нейронов на срезах узла. С возрастом число нейронов в ЗУ значимо не менялось (табл. 3).

Обсуждение полученных данных. Результаты проведенного исследования свидетельствуют, что у крыс всех возрастных групп ЗУ имеет звездчатую форму. Основные варианты отхождения ветвей, присущие взрослым животным, уже наблюдаются с момента рождения и не изменяются с возрастом. Выявлено, что у крыс присутствуют 3 варианта отхождения ветвей от медиального края ЗУ, причем различий между правым и левым узлами не обнаружено. Установленные варианты, за исключением 3-го, обнаружены на всех изученных этапах онтогенеза, что, вероятно, связано с малым числом наблюдений. Наиболее часто встречается раздельное отхождение краниальной и каудальной ветвей подключичной петли, каудального сердечного нерва, что соответствует данным, полученным на взрослых крысах [6]. У кошки с момента рождения обнаружены 5 вариантов для левого узла и 3 варианта — для правого ЗУ [5]. Следовательно, ЗУ у крысы характеризуется меньшим разнообразием ветвей, чем у кошки. В отличие от котят, у крысят во всех возрастных группах нет прямых анастомозов с вагосимпатическим стволом, выявлено лишь от одной до двух соединительных ветвей, идущих в направлении ствола.

В постнатальном онтогенезе закономерно с увеличением длины и массы животного возрастают размеры и объем ЗУ. По нашим данным, длина узла от момента рождения к 6-месячному

Таблица 1

Частота встречаемости вариантов отхождения ветвей от медиального края звездчатого узла у крыс разных возрастных групп (%)

Возрастные группы	Варианты отхождения ветвей		
	А	Б	В
Новорожденные	50	50	0
10-суточные	50	40	10
20-суточные	50	50	0
30-суточные	75	25	0
60-суточные	62,5	25	12,5
180-суточные	50	40	10

Примечание. А — первый вариант; Б — второй вариант; В — третий вариант.

Таблица 2

Размеры и объем звездчатого узла у крыс разных возрастных групп ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Возрастные группы	Длина, мм	Ширина, мм	Толщина, мм	Объем, мм ³
Новорожденные	2,01±0,21*	0,63±0,04*	0,198±0,023*	0,123±0,025*
10-суточные	2,17±0,09*	0,82±0,04*	0,366±0,019*	0,30±0,04*
20-суточные	2,51±0,14*	0,81±0,07*	0,541±0,015*	0,43±0,06*
30-суточные	2,92±0,12*	0,73±0,06*	0,629±0,021	0,61±0,07*
60-суточные	3,62±0,23	0,91±0,08	0,62±0,05	0,84±0,08
180-суточные	3,81±0,18	0,88±0,07	0,67±0,05	1,12±0,14

* Здесь и в табл. 3: различия по сравнению с показателями у 60-суточных животных значимы при $P < 0,05$.

Таблица 3

Морфометрические характеристики нейронов звездчатого узла у крыс разных возрастных групп ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Возрастные группы	Количество	Диаметр, мкм	Площадь сечения, мкм ²	Плотность расположения, на 1 мм ² среза
Новорожденные	20637±3686	15,23±0,21*	181±8*	2614±169*
10-суточные	24029±4185	20,28±0,09*	324±11*	1626±36*
20-суточные	26232±3846	20,86±0,14*	344±9*	1275±57*
30-суточные	25230±3126	23,52±0,12*	435±15*	972±43*
60-суточный	20473±3452	26,88±0,23	543±27	641±17
180-суточные	22473±2894	27,54±0,18	594±23	515±16*

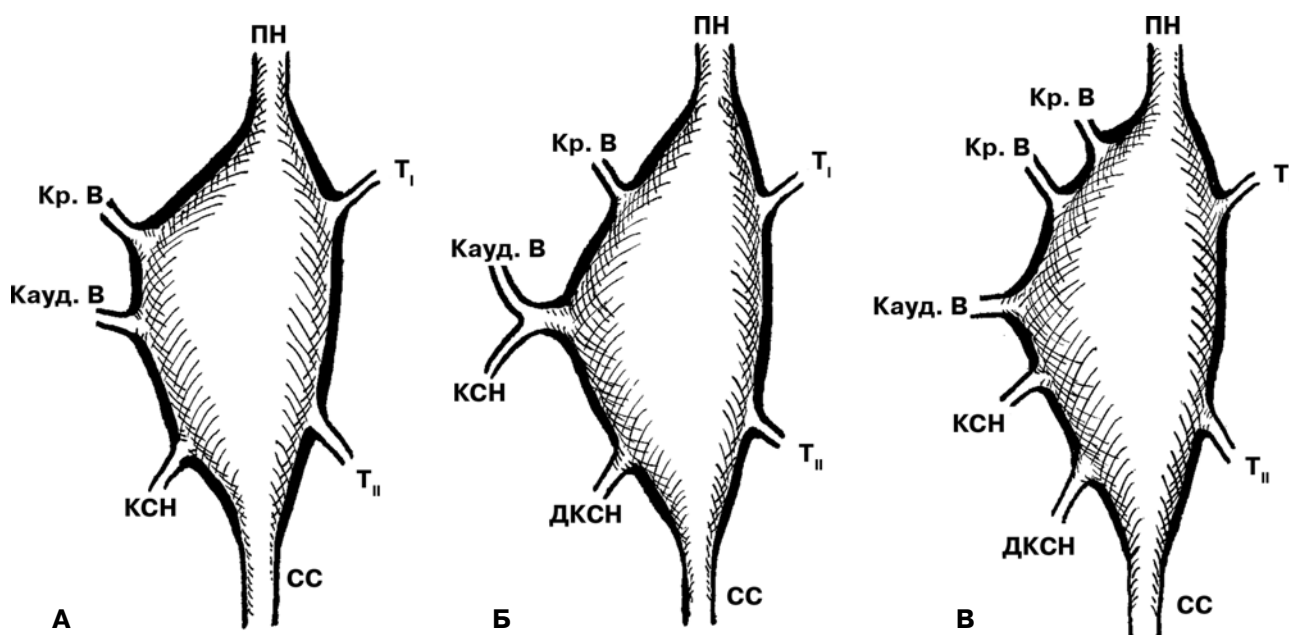
возрасту увеличивается в 1,9 раза, ширина — в 1,5 раза, толщина — в 3 раза, объем — в 10 раз, в то время как линейные размеры крысы — в 4 раза [3]. У человека ЗУ приобретает размеры, свойственные взрослым, к 8–13 годам. Размеры узлов к этому времени возрастают вдвое по сравнению с таковыми у новорожденных [2].

Размеры нейронов у крыс к 60-суточному возрасту увеличиваются. Различий размеров нейронов в краниальной и каудальной частях ЗУ, а также в правом и левом ЗУ не выявлено. По данным литературы, размеры нейронов ЗУ крысы стабилизируются к 3-му месяцу жизни [8]. У кошки площадь сечения нейронов ЗУ приобретает размеры, свойственные взрослому животному, к 6-месячному возрасту [12].

Увеличение площади сечения нейронов и их среднего диаметра у крыс закономерно влечет уменьшение плотности их расположения на центральных срезах. Те же закономерности установ-

лены в ЗУ у котят разных возрастных групп [12]. Однако в отличие от кошки, у крыс не наблюдается различий в плотности расположения нейронов между правым и левым узлами, а также между каудальной и краниальной частями узла [7, 12].

Число нейронов в правом и левом ЗУ у крыс одинаковое и с возрастом значимо не меняется. Эти результаты отличаются от данных, полученных у новорожденных котят, у которых число нейронов в правом и левом ЗУ различается и является максимальным, в то время как у взрослых кошек количество нейронов уменьшается, и различий между узлами по данному показателю не выявлено [12]. В краниальном шейном узле у крысят также наблюдается уменьшение числа нейронов в течение 1-й постнатальной недели [14]. По-видимому, в ЗУ у крыс большинство нейробластов дифференцируются уже к моменту рождения.



Основные варианты (А, Б, В) отхождения ветвей от звездчатого узла крысы.

Кр.В — краниальная ветвь подключичной петли; Кауд.В — каудальная ветвь подключичной петли; КСН — каудальный сердечный нерв; ДКСН — добавочный каудальный сердечный нерв; СС — межганглионарная ветвь симпатического ствола; Т_I, Т_{II} — соединительные ветви к первым двум спинномозговым нервам; ПН — позвоночный нерв.

Таким образом, к моменту рождения анатомическая структура ЗУ уже сформирована. В то же время, происходит увеличение размеров нейронов при относительно постоянном их числе. Окончательно морфометрические параметры нейронов ЗУ устанавливаются к 60-суточному возрасту животного.

Работа поддержана РФФИ, гранты 08-04-00470; 10-04-90002, грантом Президента РФ для поддержки молодых ученых-докторов наук (№175.2008.4).

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. М., Медицина, 1990.
2. Гришан К.И. О возрастных особенностях строения верхнего шейного симпатического узла. В кн.: Материалы 7-й науч. конф. по вопросам возрастной морфологии, физиологии, биохимии. М., изд. АПН СССР, 1965, с. 49–50.
3. Западнюк В.И., Западнюк И.П. и Захария Е.А. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. Киев, Вища школа, 1974.
4. Золотарева Т.В., Дешук Т.А. и Шепитько В.И. Хирургическая анатомия звездчатого узла. *Вопр. нейрохир.*, 1979, № 1, с. 38–41.
5. Маслюков П.М. Возрастная морфофункциональная характеристика нейроцитов и проводящих путей звездчатого ганглия: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Ярославль, 1997.
6. Ноздрачев А.Д. и Поляков Е.Л. Анатомия крысы. СПб., Наука, 2001.
7. Ноздрачев А.Д. и Фатеев М.М. Звездчатый ганглий: структура и функции. СПб., Наука, 2002.
8. Румянцева Т.А. Влияние химической денервации на нейроны экстра- и интрамуральных ганглиев в постнатальном онтогенезе белой крысы: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. СПб., 2002.
9. Haddad C. and Armour J.A. Ontogeny of canine intrathoracic cardiac nervous system. *Am. J. Physiol.*, 1991, v. 261, № 4, p. 920–927.
10. Hopkins D.A., Gootman P.M., Gootman N. and Armour J.A. Anatomy of medullary and peripheral autonomic neurons innervating the neonatal porcine heart. *J. Auton. Nerv. Syst.*, 1997, v. 64, p. 74–84.
11. Langley J.N. On the course and connections of the secretory fibres supplying the sweat glands of the feet of the cat. *J. Physiol.*, 1891, v. 12, p. 347–374.
12. Masliukov P.M., Pankov V.A., Strelkov A.A. et al. Morphological features of neurons innervating different viscera in the cat stellate ganglion in postnatal ontogenesis. *Auton. Neurosci.*, 2000, v. 84, p. 169–175.
13. Phillips J.G., Randall W.C. and Armour J.A. Functional anatomy of the major cardiac nerves in cats. *Anat. Rec.*, 1986, v. 214, № 4, p. 362–371.
14. Wright L.L., Cunningham T.J. and Smolen A.J. Developmental neuron death in the rat superior cervical sympathetic ganglion: cell counts and ultrastructure. *J. Neurocytol.*, 1983, v. 12, № 5, p. 727–738.

Поступила в редакцию 25.09.09

MORPHOLOGICAL FEATURES OF THE RAT STELLATE GANGLION DURING EARLY POSTNATAL DEVELOPMENT

M.B. Korzina, A.A. Korobkin, O.A. Vasilyeva and P.M. Masliukov

The aim of this work was to study the anatomical characteristics of the stellate ganglion (SG) and the morphometric characteristics of its neurons in rats of different age groups (newborn, 10-, 20-, 30-, 60- and 180-day-old) using anatomical and histological methods. The results obtained indicated that in rats since birth there were three variants of branch origin from the medial margin of SG. No differences were observed in these variants between right and left SG. The sizes of both SG and its neurons increased during the first two months of postnatal development. The density of neurons in SG sections decreased from the moment of birth until the six months of age. The number of SG neurons did not change significantly in the postnatal ontogenesis. Thus, SG in rats is anatomically formed by the moment of birth, while the sizes and morphometric characteristics of SG neurons become finally stabilized by the second month of age.

Key words: stellate ganglion, branches, neurons, age changes, rat.

Department of Normal Physiology and Biophysics; Department of Human Anatomy, Yaroslavl State Medical Academy