

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

А. М. ЧИЛИНГАРЯН

ФОСФОМОНОЭСТЕРАЗЫ НЕРВНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ
ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА

Широкое распространение фосфомоноэстераз, их способность расщеплять разнообразные моноэфиры фосфорной кислоты указывают на важное функциональное значение этих энзимов в обмене веществ. Однако их распределение в различных тканях и органах существенно отличается и, как показано в ряде гистохимических работ, активность кислой и щелочной фосфомоноэстераз в разных отделах нервной системы различная [1, 10, 11]. Хотя изучение этих энзимов во внутриорганных нервных сплетениях представляет значительный интерес, тем не менее до последнего времени исследования в этом направлении не проводились. Сравнительно недавно в лаборатории И. Ф. Иванова были получены новые факты, указывающие на значительную специфичность метода определения кислой фосфатазы и отличие свойств этого энзима в различных клеточных структурах. На этой основе был разработан новый морфо-гистохимический прием [2], применение которого намного расширило наше представление о химии и морфологии нервных элементов пищеварительного тракта [3, 4, 5, 6, 7].

Данные настоящего сообщения относятся к локализации кислой и щелочной фосфатаз в нервных элементах пищеварительного тракта.

Объектом для исследования служили нервные сплетения пищевода, желудка, тонкого и толстого отделов кишечника кошек, а также кроликов и голубей.

После декапитации отсепарировались исследуемые органы и фиксировались в охлажденном ацетоне 12—48 ч., далее пищевод и желудок перефиксировались в 10% нейтральном формалине в течение 4 ч. Из пищевода и желудка готовились замороженные срезы, а из кишечника тотальные препараты (способом, описанным нами ранее [8]).

Активность щелочной фосфатазы определялась методом Гомори с инкубацией срезов от 1 до 24 ч., а кислой фосфатазы—методом Гомори по прописи Вольфа и др. [11] с 5—8-часовой инкубацией.

Рисунки представлены в виде микросъемок с оригинала.

Локализация щелочной фосфатазы в нервных сплетениях пищеварительного тракта. В ранних сроках инкубации отмечается лишь слабая реакция ядер гладкомышечных клеток, значительно усиливающаяся при продлении инкубации; слабо выступают очертания нервных ганглиев,

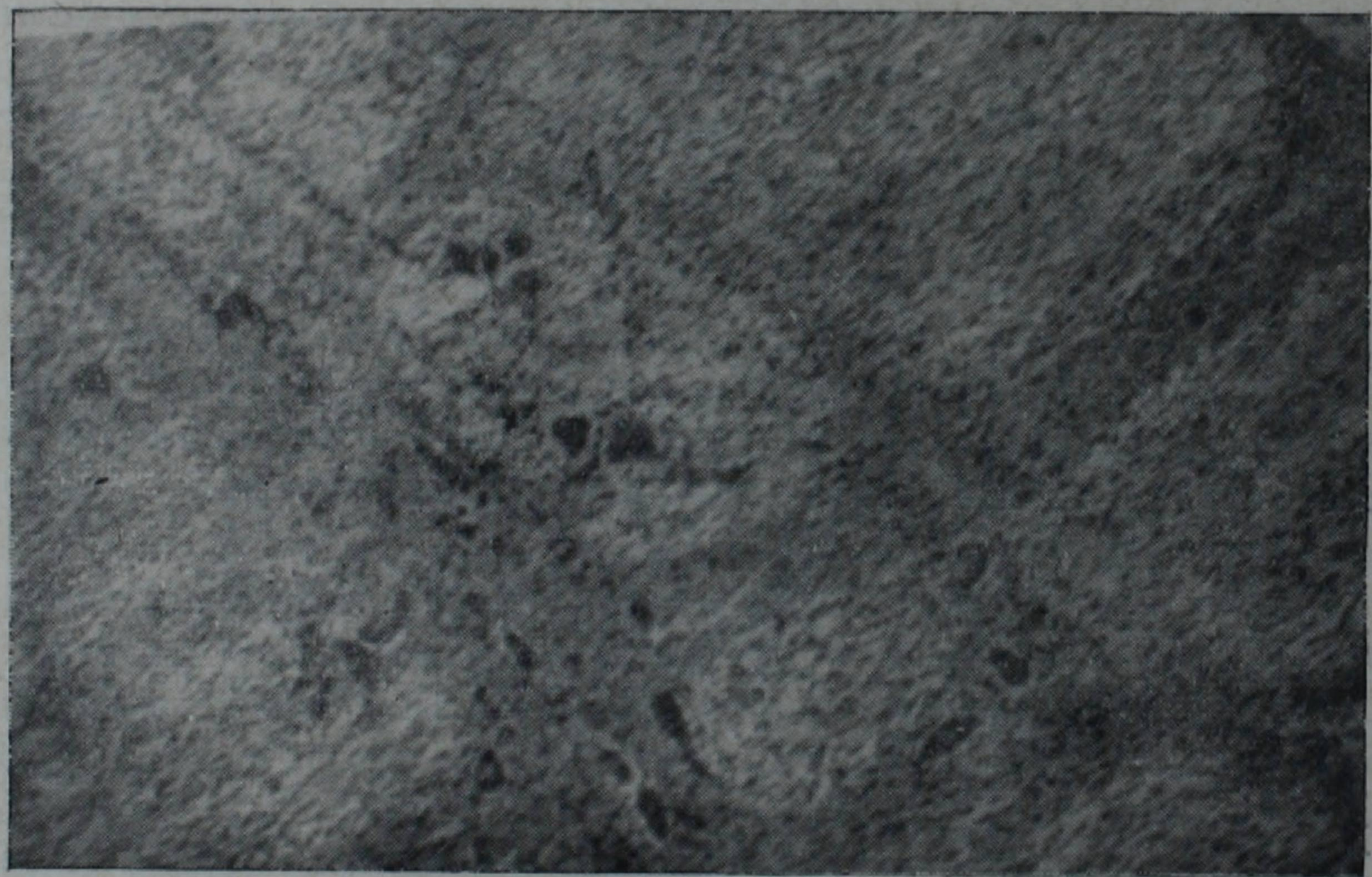
однако как в ранних, так и в поздних сроках инкубации не обнаруживаются морфологические структуры нейронов.

Локализация кислой фосфатазы в межмышечном нервном сплетении тонкого и толстого отделов кишечника, пищевода и желудка кошек.

Тонкий отдел кишечника. На препаратах достаточно четко выступают ганглии и соединяющие их нервные стволы. В нервных клетках содержание энзима отмечается в плазме перикариона и в отростках; последние часто четко выражены и легко определяется их принадлежность ко II типу Догеля. Иногда в клетках удается обнаружить нейрофибриллярный аппарат. Количество нервных клеток варьирует в зависимости от величины ганглия, они исчисляются от нескольких единиц до нескольких десятков.

Клетки I типа Догеля в этих условиях не проявляют активности энзима и остаются невыявленными.

В ганглиях, кроме нервных клеток, активность энзима отмечается также в ядрах различной формы и величины, из коих крупные по харак-

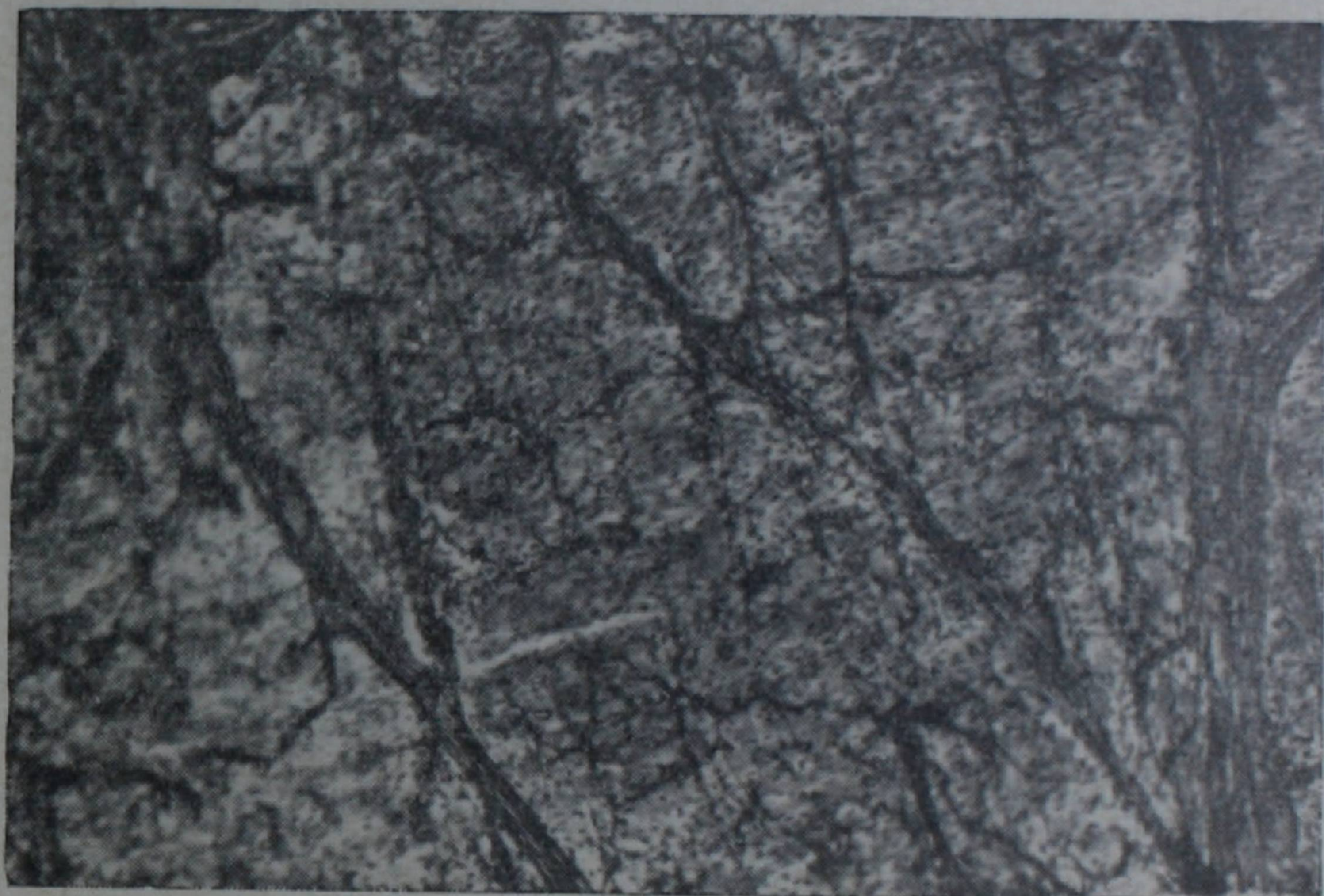


Микрофото 1. Межмышечное нервное сплетение тонкого отдела кишечника кошки. Кислая фосфатаза. Реакция ганглиев и ядер

теру реакции совершенно сходны с ядрами клеток II типа. В них фермент обнаруживается в ядерной мембране и гранулах. Ядра эти многочисленны и встречаются во всех нервных узлах. Кроме них в ганглиях выявляется большое количество мелких ядер, которые, в основном, закрашиваются диффузно, а в ряде случаев удается обнаружить хроматиновую сеть.

В нервных стволах сплетения содержание фермента отмечается в осевых цилиндрах. В швановских клетках фермент активен в ядрах. По реакции, форме и величине ядра эти сходны с находящимися в ганглиях мелкими ядрами.

Ядра гладкой мускулатуры показывают положительную реакцию. В мускулатуре удается обнаружить нервные окончания, пролегающие в глубине мышечного слоя и оканчивающиеся возле ядер мышечных клеток. Нервное сплетение II порядка реагирует далеко не у всех животных и во многих случаях его обнаружить не удастся, но иногда у некоторых индивидуумов вся мускулатура тонкого отдела буквально пронизана этим сплетением, образованным очень тонкими, состоящими из нескольких волокон пучками, отходящими от стволов основного сплетения. В местах перекреста отчетливо выступают ядра глии.



Микрофото 2. Межмышечное нервное сплетение тонкого отдела кишечника. Кислая фосфатаза нервного сплетения II порядка

В экстрамуральных нервных стволах, вступающих в стенку кишечника, осевые цилиндры окрашиваются интенсивно, но ядра глии не проявляют активности фермента.

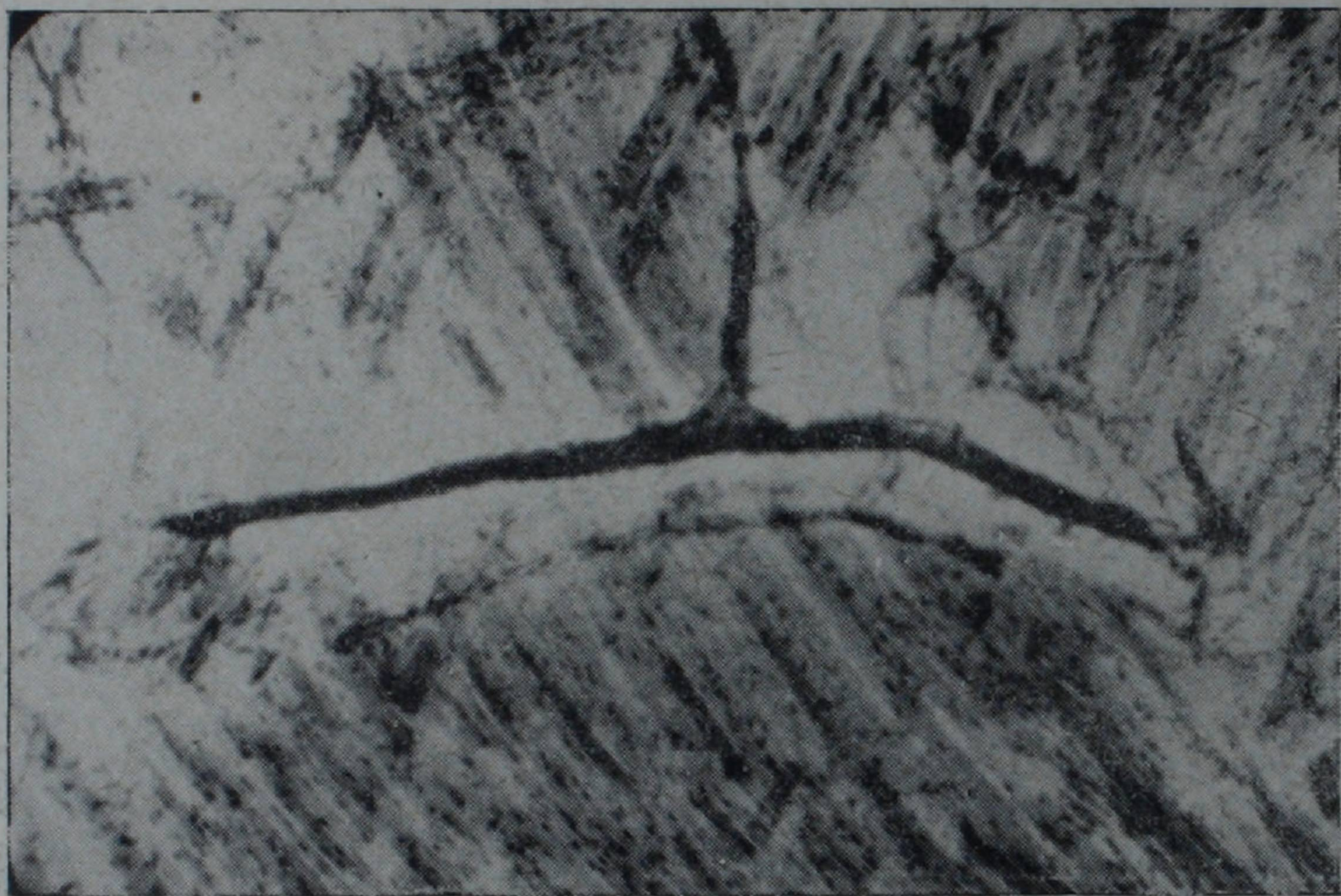
В кровеносных сосудах активность энзима отмечается в ядрах эндотелия и мышечных клеток. В капиллярах местами, кроме ядер эндотелия, выявляется и вся стенка сосуда.

Толстый отдел кишечника. В различных участках толстого отдела кишечника количество выявленных клеток значительно варьирует, в прямой кишке нейроны не проявляют активности энзима. В остальном реакция идентична таковой тонкого отдела кишечника.

Пищевод. В поперечнополосатых мышцах осадок обнаруживается в ядрах, четко выступает поперечнополосатая исчерченность. В ганглиях нейроны выявляются редко, а в выявленных клетках окрашены только их тела, отростки же не реагируют. Ядерный состав ганглиев разнообразен, выявляются как крупные, так и мелкие ядра. Реакция ядер нейронов и крупных ядер такая же, как в межмышечном сплетении кишечника. Нервные стволы реагируют интенсивно.

Волокна экстрамуральных и межганглионарных стволов импрегнируются четко. Местами в поперечнополосатой мускулатуре видны моторные бляшки.

Желудок. Ядра мускулатуры реагируют положительно, встречаются нервные стволы. В остальном данные идентичны реакции ганглиев пищевода.



Микрофото 3. Межмышечное нервное сплетение пищевода. Реакция нервных стволов

Подслизистое нервное сплетение кишечника кошки. На препаратах ганглии имеют различную величину. В крупных ганглиях фосфатазной активностью обладают нервные клетки II типа Догеля, количество которых незначительно; отмечается отложение осадка в перикарионе и в отростках.

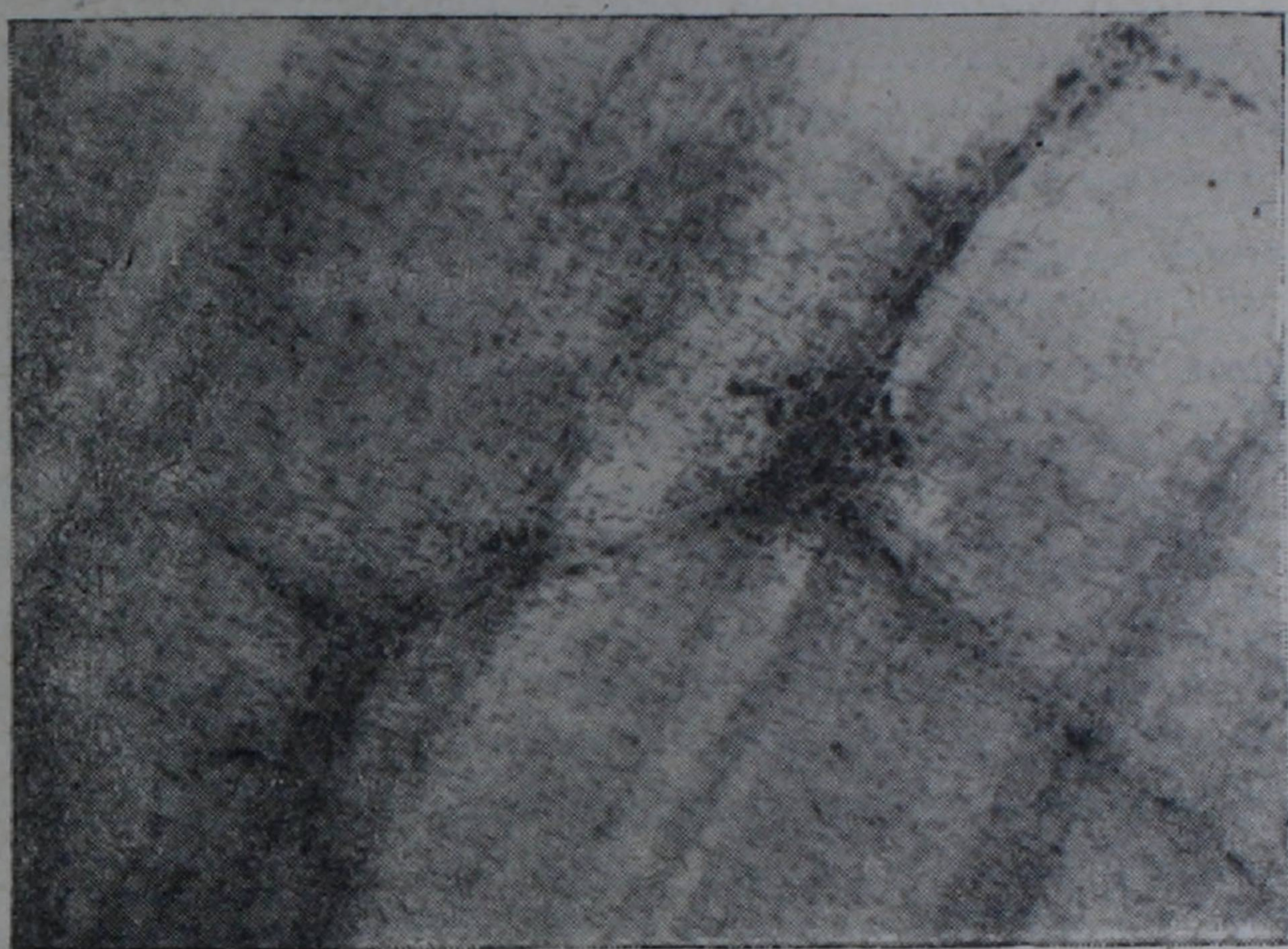
Ядра реагируют подобно ядрам нервных клеток межмышечного нервного сплетения. Основная масса ганглиев представлена крупными ядрами, аналогичными описанным нами ядрам ауэрбаховского сплетения. Небольшие ганглии состоят исключительно из таких крупных ядер. Мелкие ядра не содержат энзима и не выявляются.

В нервных стволах интенсивно реагируют отдельные нервные волокна, однако ядра глии не проявляют активности.

Реакция кровеносных сосудов идентична реакции межмышечного сплетения. Часто видны хорошо выраженные нервные стволы, идущие с кровеносными сосудами. Нервные окончания обнаруживаются с трудом.

Межмышечное нервное сплетение тонкого отдела кишечника кролика. Для определения активности энзима нами использовался тонкий отдел кишечника. При приготовлении тотальных препаратов следует учесть то обстоятельство, что мышечная оболочка у кроликов очень тон-

кая, и не всегда удается полностью отделить циркулярный слой. Его участки при препаровке могут оставаться на продольном слое и покрывать межмышечное нервное сплетение, в результате сильно замедляется проникновение реактивов, и это может создать ложное впечатление отсутствия активности энзима.



Микрофото 4. Межмышечное нервное сплетение тонкого отдела кишечника кролика. Кислая фосфатаза

По сравнению с кошками, для подобного рода исследований сплетение кишечника кролика менее удачный объект.

Просмотр препаратов показывает, что хотя и проявляется активность энзима в телах нейронов, однако они окрашиваются диффузно и отростки их обнаруживаются с трудом. Поэтому крайне затруднительно установить принадлежность этих клеток к тому или другому типу. В отростках и в нервных волокнах, вследствие незначительного содержания энзима, происходит очень слабое окрашивание.

В стволах сплетения иногда видны хорошо окрашенные отдельные нервные волокна. В ганглиях, а также в нервных стволах, отмечается хорошо выраженная реакция ядер различной величины, аналогичная реакции, описанной нами у кошек. В нервных стволах ядра глии располагаются в виде цепочки в центре тяжа, а по периферии идут осевые цилиндры.

Ядра гладкой мускулатуры выступают довольно четко, в них можно обнаружить хроматиновую сеть, а иногда кариоплазма реагирует целиком. Кроме того, активность фермента проявляется и в рассеянных по всей мускулатуре ядрах округлой формы, природу которых очень трудно установить.

Кровеносные сосуды реагируют не у всех индивидуумов. Также непостоянна и реакция вторичного нервного сплетения, но в мускулатуре можно заметить четко выявленные отдельные нервные окончания.

Подслизистое нервное сплетение кролика. В этом сплетении ганглии выявляются в виде своеобразных отростков, состоящих из 5—15 крупных ядер с ферменто-активными ядрышками и гранулами. Мелкие ядра встречаются в меньшем количестве. Стволики, соединяющие ганглии, не выявляются. В некоторых случаях хорошо реагируют отдельные нервные волокна, прослеживаемые на достаточно далеком расстоянии.

У голубей фермент активен в ядрах различных тканей. Нейроны не проявляют активности фермента. В стволах четко выявляются отдельные нервные волокна и ядра глии.

Резюмируя полученные нами данные, необходимо отметить, что устранением процедуры приготовления срезов (особенно парафиновой заливки) нам удалось получить постоянные, идентичные результаты в одной и той же серии опытов, а контрольные опыты (на наших объектах) показали значительную специфичность метода кислой фосфатазы. Эти обстоятельства позволяют установить точную локализацию энзимов в разных структурах.

Наши наблюдения показывают практическое отсутствие активности щелочной фосфатазы в нейронах интрамуральных ганглиев, в противовес хорошо выраженной активности фермента в нейронах экстрамуральных ганглиев [9].

Активность кислой фосфатазы достаточно четко выражена во многих структурах. Ядра различных тканей, волокна и нервные окончания, за некоторым исключением, во всех исследуемых отделах реагируют примерно одинаково.

Реакция клеток I и II типов различная. В то время как нейроны II типа показывают значительное содержание кислой фосфатазы, клетки I типа, по методу Гомори, во всех отделах пищеварительного тракта не проявляют активности энзима.

В отличие от кошек, у голубей структур нейронов не удается выявить.

Установленный нами факт неравномерной локализации фосфатаз указывает на значительное отличие обмена фосфорных соединений в разных типах нейронов.

Институт физиологии
им. Л. А. Орбели АН АрмССР

Поступило 12.IV 1960 г.

Հ. Մ. ԶԻՆՆԳՐՅԱՆ

ՖՈՍՖՈՐՆԱԲՈՒԹԵՐԱԶՆԵՐԸ ԱՂԵՍՏԱՄՈՔՍԱՅԻՆ ՈՒՂԻՆԵՐԻ
ՆՅԱՐԴԱՅԻՆ ԷԼԵՄԵՆՏՆԵՐՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Տվյալ հետազոտությամբ Հոմորի կլասիկ մեթոդներով ուսումնասիրվել է թթվային և հիմնային ֆոսֆատազների առկայությունը կառուցների կերակրափողի, ստամոքսի, աղիների, ինչպես նաև ճաղարների և աղավնիների բարակ աղիների միջմկանային ու ենթալորձային նյարդային հանգույցներում:

Ստացված արդյունքները ցույց տվեցին, որ Հիմնային ֆոսֆատազան վերոհիշյալ հատվածների նյարդային գոյացություններում փաստորեն բացակայում է: Թթվային ֆոսֆատազան ակտիվ է զանազան հյուսվածքների բջիջների կորիզներում:

Կատուների բարակ աղիների նյարդային հանգույցների Դոգելի երկրորդ կարգի բջիջներում ֆերմենտն ավելի ակտիվ է, քան առաջին կարգի բջիջներում: Ճագարների նյարդային հանգույցներում ֆերմենտի ակտիվությունը հիմնականում նկատվում է բջջի մարմնում, իսկ ելուստներում այն արտահայտված է չափազանց թույլ: Աղավնիների մոտ ֆերմենտի ակտիվությունը նկատվում է տարբեր բջիջների կորիզներում ու նյարդաթելերում, նյարդային բջիջներում նկատվում է ֆերմենտի ակտիվության բացակայություն:

Հիմնային ֆոսֆատազային ակտիվության բացակայությունը աղեստամոքսային ուղիների բոլոր հատվածների նյարդային գոյացություններում և թրթվային ֆոսֆատազայի ակտիվության տարբերությունը տարբեր կենդանիների ու կարգերի նյարդային բջիջներում վկայում են ֆոսֆոր-օրգանական միացությունների նյութափոխանակության զգալի տարբերությունը՝ զանազան տիպի նյարդային բջիջներում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Португалов В. В. Очерки гистофизиологии нервных окончаний. М., 1955.
2. Чилингарян А. М. Диссертация. М., 1954.
3. Евсегва Л. И. Автореферат диссертации. М., 1955.
4. Церев Х. Автореферат диссертации. М., 1956.
5. Эльберт М. Э. Автореферат диссертации. М., 1957.
6. Сушков Ф. В. Автореферат диссертации. М., 1959.
7. Радостина Т. Н. К вопросу о размножении нейронов вегетативной нервной системы. Тр. I МОЛМИ, им. Сеченева, т. II, 1957, стр. 241—247.
8. Чилингарян А. М. О свойстве кислой фосфатазы, локализованной в разных клеточных структурах. ДАН АрмССР, 1959, № 4, стр. 177—181.
9. Аминова Г. Г. Автореферат диссертации. М., 1958.
10. Landau H., Kabat E. and Newman W. Arch. Neurol. Psychiat. 48, 1942, 518—530.
11. Wolf A., Kabat E. and Newman W. Am. J. Path. 19, 1943, 429—439.