

Т. А. БЕЛОУСОВА, А. Г. МКРՏՉԻԱՆ

УЛЬТРАСТРУКТУРА СИМПАТИЧЕСКИХ ВОЛОКОН МИОКАРДА МЫШИ В УСЛОВИЯХ ДЕЙСТВИЯ ЭКЗОГЕННОГО ФАКТОРА РОСТА НЕРВНОЙ ТКАНИ

Исследовалась ультраструктура симпатических немиелинизированных нервных волокон миокарда левого желудочка одномесячных мышей в норме и при введении фактора роста нервной ткани (ФРНТ). Установлено, что после 14-кратного введения новорожденным мышам ФРНТ при однократной дозе 500 ед/г возникает резкая гипертрофия и гиперплазия аксонов симпатических нервных волокон. Субмикроскопическое строение шванновских клеток, размеры и число их не претерпевают значительных изменений.

ФРНТ представляет собой специфический протеин, обнаруженный в экстракте мышинной саркомы 180 и 37 [1], в яде змей [2] и в подчелюстных слюнных железах половозрелых самцов мышей [3]: при этом было установлено, что он обладает способностью вызывать рост симпатических и сенсорных нейронов.

Изучение влияния ФРНТ *in vitro* и *in vivo* показало, что в стадии эмбрионального развития к нему чувствительны как симпатические, так и сенсорные нейроны; однако симпатические нейроны сохраняют эту чувствительность и на протяжении последующих фаз онтогенеза, вплоть до взрослого состояния, а сенсорные ганглии новорожденных и взрослых мышей не отвечают ростом на воздействие ФРНТ [4—6]. На культуре ткани симпатических нейронов было показано, что в присутствии ФРНТ нейроны активно развиваются, в то время как в культуре без ФРНТ происходит почти полная их дегенерация [1, 7, 8].

Интересные данные были получены при изучении влияния ФРНТ на симпатические ганглии новорожденных и взрослых мышей *in vivo*. Так, при ежедневном введении в течение 9 дней больших количеств высокоочищенного фактора роста новорожденным мышам было обнаружено 12-кратное увеличение веса симпатических ганглиев, которое происходило за счет гипертрофии и гиперплазии нейронов [9—11]. Инъекции ФРНТ через 9 дней после рождения, когда митотическая активность нейронов заканчивается, вызывают только увеличение размеров последних без увеличения их числа [10, 12].

Изменения характера симпатической иннервации периферических тканей при воздействии ФРНТ изучены недостаточно. Лишь в работе Ольсона [13], выполненной методом флуоресцентной микроскопии, было показано массивное висцеральное вторжение гипертрофированных симпатических нервных волокон. Анализ работ предшествующих лет показал, что среди них нет исследований, посвященных этой проб-

леме, выполненных на электронномикроскопическом уровне, что и определило задачу данной работы.

Материал и методики. В качестве экспериментальных животных использовались новорожденные мыши линии BALB. Для опыта и контроля брались животные одного и того же помета из двух семей: из обеих семей брались по 3 опытные и 3 контрольные мыши. С первого же дня рождения опытным мышам подкожно вводили ФРНТ, выделенный из подчелюстных слюнных желез самцов мышей, по 500 ед/г в сутки (одноразовыми инъекциями) в течение 14 дней. Доза увеличивалась в соответствии с увеличением веса животного. Контрольным животным вводился физиологический раствор в объеме, соответствующем объему раствора ФРНТ. Опытные и контрольные мыши забивались через 30 дней после рождения.

Материал брали из миокарда левого желудочка сердца и фиксировали 1% раствором четырехоксида осмия на ацетат-вероналовом буфере по Паладе [14]. Дегидратация ткани проводилась в ацетонах восходящей концентрации; материал контрастировался в кусочках уранилацетатом; заливка производилась в смесь эпона с аралдитом по Моленхауэру [15]. Ультратонкие срезы толщиной 500—700 Å были получены на ультратоме ЛКВ (Швеция), контрастированы цитратом свинца по Рейнольдсу [16]. Материал исследовался с помощью электронного микроскопа JEM-100B в лаборатории патологии клетки и электронной микроскопии Института морфологии человека АМН СССР.

Результаты и обсуждение. В норме между миокардиальными клетками левого желудочка мыши в качестве единичных находок были обнаружены безмякотные нервные волокна, средний размер которых на поперечном срезе составлял около 2 мк. Как правило, они состояли из окутанных шванновскими клетками осевых цилиндров, число которых не превышало 5—6 (рис. 1).

Ядро шванновской клетки обычно располагается в средней части клетки; на электронных микрофотографиях ее цитоплазма выглядит несколько плотнее аксоплазмы и содержит элементы гранулярного и агранулярного эндоплазматического ретикулума, свободные рибосомы, митохондрии; в цитоплазме шванновской клетки отчетливо видна фибриллярность. Шванновская клетка окружена базальной мембраной толщиной 200—600 Å, имеющей фибриллярное строение; фибриллы переплетаются между собой, между ними расположено аморфное вещество.

Края цитоплазмы шванновской клетки, охватывающие аксон в обеих сторон, смыкаются над ним, образуя мезаксон. Длина мезаксона различна; чаще он является коротким и прямым, но иногда удлиннен и изгибается вокруг аксона, реже многократно ветвится, окутывая несколько аксонов.

В наиболее простых случаях края оболочки, охватывающей аксон, остаются несомкнутыми, и небольшие свободные участки аксолеммы покрывает только базальный слой леммоцита. В некоторых желобках шванновской клетки заключены два и более аксонов (рис. 1). Диаметр аксонов в волокне составляет около 0,5 мк.

Для цитоплазмы аксона характерно наличие микротрубочек и нейрофиламентов, а также митохондрий и везикулярных образований; встречаются электронноплотные включения, по-видимому, липидной

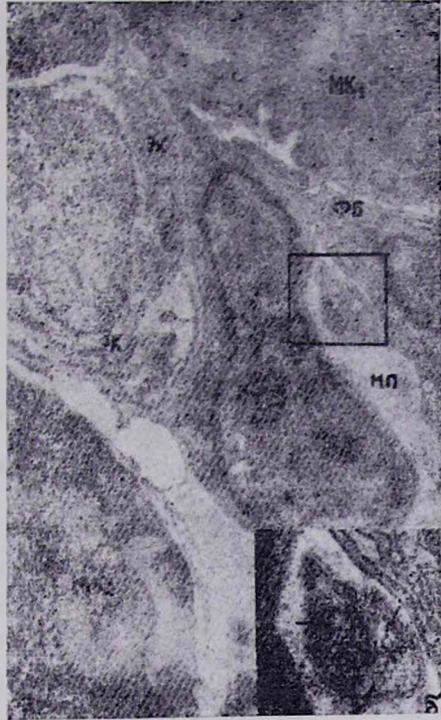


Рис. 1 (а, б). Фрагмент миокарда левого желудочка 1-месячной мыши в норме. Демонстрируется безмякотное нервное волокно (БНВ) в межклеточном пространстве (МП). Осевые цилиндры указаны одинарными стрелками, шванновская клетка—двойной стрелкой. МК₁ и МК₂—миокардиальные клетки; ЭК—эндотелиальные клетки кровеносного капилляра; ФБ—фибробласт. Ув. а) 10000 \times ; б) 20000 \times .

природы; иногда обнаруживаются элементы агранулярного эндоплазматического ретикулаума.

В отличие от нормы, в миокарде животных, которым вводили ФРНТ, группы симпатических аксонов обнаруживаются почти у каждого кровеносного сосуда. Осевые цилиндры опытных мышей гипертрофированы и гиперплазированы и не обнаруживают тенденции группироваться в отчетливо выраженные нервные волокна (рис. 2, 3).

Размеры гипертрофированных аксонов на поперечном срезе колеблются от 1 до 5 мк; форма их обычно округлая, но часто неправильная и зависит от очертаний границ соседних аксонов или миокардиальных клеток.

Эти результаты, показывающие значительную гипертрофию и гиперплазию осевых цилиндров симпатических нервных волокон, иннервирующих миокард левого желудочка сердца, согласуются с данными литературы, посвященной этому вопросу. При этом процесс роста и увеличения числа аксонов протекает, по-видимому, настолько быстро,

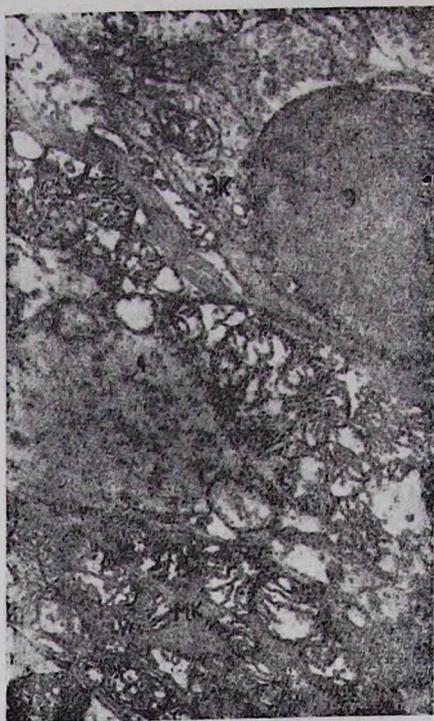


Рис. 2. Фрагмент миокарда левого желудочка 1-месячной мыши в условиях действия ФРНТ. Демонстрируются гипертрофированные аксоны: (А) в межклеточном пространстве. МК—миокардиальная клетка; ЭК—эндотелиальная клетка кровеносного капилляра; Э—эритроцит в просвете капилляра. Ув. 14000X.

что смежные с ними образования оттесняются и подвергаются частичной деформации [13].

На электронных микрофотографиях отчетливо видно, что у экспериментальных животных аксоны скудно снабжены аксоплазматическими органеллами, которые в основном представлены редкими митохондриями обычной структуры, нейрофиламентами и везикулами, сходными с синаптическими (рис. 2, 3).

Полученные нами данные об ультраструктуре этих увеличенных в диаметре аксонов, заставляют нас несколько критически подойти к выражению «гипертрофированные аксоны», которое часто можно встретить в литературе. Действительно, в целом ряде волокон в миокарде экспериментальных мышат аксоплазма многих осевых цилиндров выглядит практически пустой, так как не содержит ни органелл, ни включений (рис. 4). Нам кажется, что в подобных случаях уместнее говорить об отеке аксонов, а не об их гипертрофии, что согласуется с мнением Поликара и Бесси [17], которые писали о том, что «подлинная гипертрофия связана не с увеличением объема клетки, а с приростом

массы цитоплазмы», (а следовательно, в нашем случае, и с гиперплазмой аксоплазматических органелл), и что «отечная и вздутая клетка не считается гипертрофированной». Однако в то же время нельзя исключить, что подобные образования представляют собой «юные» нейриты, в которые еще не успели спуститься из области перикариона цитоплазматические органеллы. Если придерживаться этой точки зрения, то



Рис. 3. Фрагмент миокарда левого желудочка 1-месячной мыши при действии ФРНТ. Демонстрируются гипертрофированные аксоны (А) в межклеточном пространстве МК—миокардиальные клетки. Ув. 16000X.

можно считать, что нейрофиламенты первыми из всех органелл проделывают путь от перикариона к периферическим отделам аксона, так как они являются наиболее часто встречающимися в аксоплазме экспериментальных животных образованиями, а большинство осевых цилиндров содержит исключительно эти органеллы. Нам кажется, что данное обстоятельство является еще одним подтверждением гипотезы, согласно которой именно по нейрофиламентам транспортируются вдоль аксона в направлении периферических участков продукты метаболизма [18], а возможно, и ряд органелл [19].

Согласно данным литературы [11], ФРНТ как *in vitro*, так и *in vivo*, не вызывает в клетках-сателлитах гипертрофических и гиперпластических

ких процессов. Аналогичные данные мы получили относительно шванновских клеток периферических симпатических нервных волокон. Действительно, шванновские клетки никогда полностью не окутывают в условиях действия ФРНТ весь гигантский аксон, а лишь примыкают к



Рис. 4. Фрагмент миокарда левого желудочка 1-месячной мыши в условиях действия ФРНТ. Демонстрируется аксон с резко просветленной цитоплазмой (А). ЭК—эндотелиальная клетка кровеносного капилляра; ФБ—фибробласты; МП—межклеточное пространство. Ув. 16000X.

нему на небольшом участке его поверхности; многие из таких аксонов на поперечных срезах вообще не имеют рядом шванновских клеток. Это обстоятельство позволяет нам с известной долей осторожности предположить, что развитие и жизнедеятельность аксона осуществляется не столько за счет шванновских клеток, как считают Зингер и Салпетер [20], сколько за счет ядра и перикариона нервной клетки.

Ереванский государственный университет,
НИИ морфологии человека АМН СССР

Поступило 3.V 1976 г.

Տ. Գ. ԲԵՆՈՒՄՈՎԱ, Ա. Հ. ՄԿՐՏՅԱՆ

ՄԿԱՆ ՄԻՈԿԱՐԴԻ ՄԻՄՊԱՏԻԿ ԹԵԼԵՐԻ ՈՒՆՏՐԱՍՏՐՈՒԿՏՈՒՐԱՆ
ՆԵՐՎԱՅԻՆ ՀՅՈՒՍՎԱԾՔԻ ԱՃՄԱՆ ԷԿՋՈԳԵՆ ԳՈՐԾՈՆԸ
ԱԶԳՄԱՆ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

Ա մ փ ն փ ն ի մ

էլեկտրոնամանրադիտակային մեթոդով ուսումնասիրվել է միամսյա մկների ձախ փորոքի միոկարդի սիմպատիկ շմինելինացված ներվաթելերի ուլտրաստրուկտուրան նորմալում և ներվային հյուսվածքի աճման զործոն (նշԱԳ) ներարկելիս: Ապացուցվել է, որ մկներին նշԱԳ 14 անգամ ներարկելուց հետո (մեկ անգամվա դոզան է 500 միավ/գ) առաջանում է սիմպատիկ ներվաթելերի ախտոնների կտրուկ հիպերտրոֆիա և հիպերպլազիա:

Շվանի բջիջների ենթամանրադիտակային կառուցվածքը, թիվը և չափ-սկրը նկատելի փոփոխության չեն ենթարկվում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Crain S. M., Benitez H., Vatter A. E. Ann. N. Y. Acad. Sci., 118, 206—231, 1964.
2. Cohen S., Levi-Montalcini R. Proc. Nat. Acad. Sci., U. S. 42, 571—574, 1956.
3. Levi-Montalcini R., Cohen S. Ann. N. Y. Acad. Sci., 85, 324—341, 1960.
4. Levi-Montalcini R. Ann. N. Y. Acad. Sci., 118, 149—168, 1964.
5. Levi-Montalcini R. Harvey Lectures., 60, 217—253, 1966.
6. Levi-Montalcini R., Angeletti P. U. Quart. Rev. Biol., 36, 99—108, 1961.
7. Levi-Montalcini R., Angeletti P. U. Develop. Biol., 7, 653—659, 1963.
8. Shaker A, Brain Res., 23, 315—321, 1970.
9. Levi-Montalcini R. Proc. Roy. Soc. Med., 58, 357—360, 1965.
10. Levi-Montalcini R., Angeletti P. U. Phys. Rev., 48, 3, 534—569, 1968.
11. Levi-Montalcini R., Angeletti P. U., Caramia F. J. Ultrastruct. Res., 36, 21—36 1971.
12. Levi-Montalcini R., Booker B. Proc. Nat. Acad. Sci., U. S., 42, 384—391, 1960.
13. Olson L. Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat., 81, 155—173, 1967.
14. Palade G. E. J. Exptl. Med., 95, 25b, 1952.
15. Möllenhauer. Stein Technol., 39, 2, 1962.
16. Reynolds E. S. J. Cell Biol., 17, 208, 1963.
17. Поликар А., Бессу М., Элементы патологии клетки, М., 1970.
18. Anderson W. A., Weissman A., Eells R. A. Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat. 71, 1—13, 1966.
19. Palay S. L. J. Biophys. Biochem. Cytol., 2, 193—202, 1956.
20. Singer M., Salpeter M. M. J. Morphol., 120, 281—315, 1966.

