

ЛОКАЛІЗАЦІЯ АЦЕТИЛХОЛІНЕСТЕРАЗИ В НЕРВОВИХ ЕЛЕМЕНТАХ ГІППОКАМПА КРОЛИКІВ

І. В. Торська і Л. Ф. Бурчинська

*Лабораторія морфології нервової системи Інституту фізіології
ім. О. О. Богомольця АН УРСР, Київ*

Виявлення ацетилхолінестерази (АХЕ 3. 1. 1. 7) у нервових структурах гіпокампа здійснили численні автори [6, 8, 10, 11 та ін.], які показали топографію розподілу ферментної активності в різних шарах гіпокампа на мікро-макроскопічних препаратах завтовшки 100 мк. Вони не вивчали локалізацію АХЕ в окремих нервових клітинах гіпокампа. Тому лишилися нез'ясованими питання про те, які саме елементи (захожі чи місцеві) є носіями АХЕ-активності в корі гіпокампа, а також, які міжнейронні контакти здійснюються за участю АХЕ.

Для ідентифікації АХЕ ми користувалися методом Карновського — Рутса з використанням загальноприйнятих контролів. Тривалість інкубації — 1—1,5 год. Були обслідувані 20 мк поперечні зрізи заднього відділу гіпокампа шести здорових дорослих кроликів — самців і самок.

У виявленій загальній топографії розподілу АХЕ ми цілком підтримуємо дані згаданих авторів (рис. 1, А). За допомогою більш тонкої мікроскопії встановлено, що фермент міститься в сплетеннях безм'якушевих варикозних волокон. Ми звертаємо увагу на той факт, що мікро-макроскопічні картини розподілу АХЕ відображають густоту сплеть безм'якушевих волокон. Холінергні сплетення створені варикозними безм'якушевыми волокнами калібру 0,5—1,5 мк. Реакція на АХЕ на протязі волокон нерівномірна, вона посилюється у варикозитах і максимально інтенсивна в кінцевих бляшках.

Холінергні кінцеві синаптичні бляшки знайдені на апікальних дендритах і тілах пірамідних клітин. Біля основи апікальних дендритів можна бачити грони термінальних бляшок з інтенсивною реакцією на АХЕ (рис. 1, Ж). На тілах і відростках поліморфних клітин існують також термінали варикозних волокон (рис. 1, Д, Е, Є); їх мало серед гранулярних клітин зубчастої фасції.

Особливий інтерес становить той факт, що з усіх нейронів гіпокампа тільки поліморфні клітини (усіх шарів) дають інтенсивну позитивну реакцію на АХЕ. У цитоплазмі поліморфних клітин імерсійні збільшення дозволяють побачити пиловидну зернистість коричневого кольору, дифузно розподілену в перикаріоні і відростках (рис. 1, Б). Поблизу від тіла відростки поліморфних клітин стоншуються і багаторазово галузяться, перетворюючись у варикозні безм'якушеві волокна. Саме їх варикозними колатераліями утворені сплетення в усіх шарах гіпокампа. Так, в *stratum oriens* колатералі відростків усіх поліморфних клітин об'єднуються у широкопетлисте сплетення варикозних волокон, яке згущається в *Lamina infrapyramidalis*. Аксони поліморфних клітин (також варикозні волокна) проникають між пірамідними клітинами в *stratum radiatum*, повторно галузяться та утворюють сплетення і термінали навколо основи базальних та апікальних дендритів і на тілах пірамідних клітин (рис. 1, Ж, З). Саме тому в мікро-макроскопічних препаратах видно посилення холінестеразної активності в цих ділянках (рис. 1, А). Густота холінергних сплеть у пірамідному шарі сектора Н-3 пояснюється скупченням поліморфних нейронів, які тут закономірно перебувають і лежать не тільки в *stratum oriens*, а й серед пірамідних клітин.

Менш густі сплетення *stratum lacunosum* і *stratum moleculare*

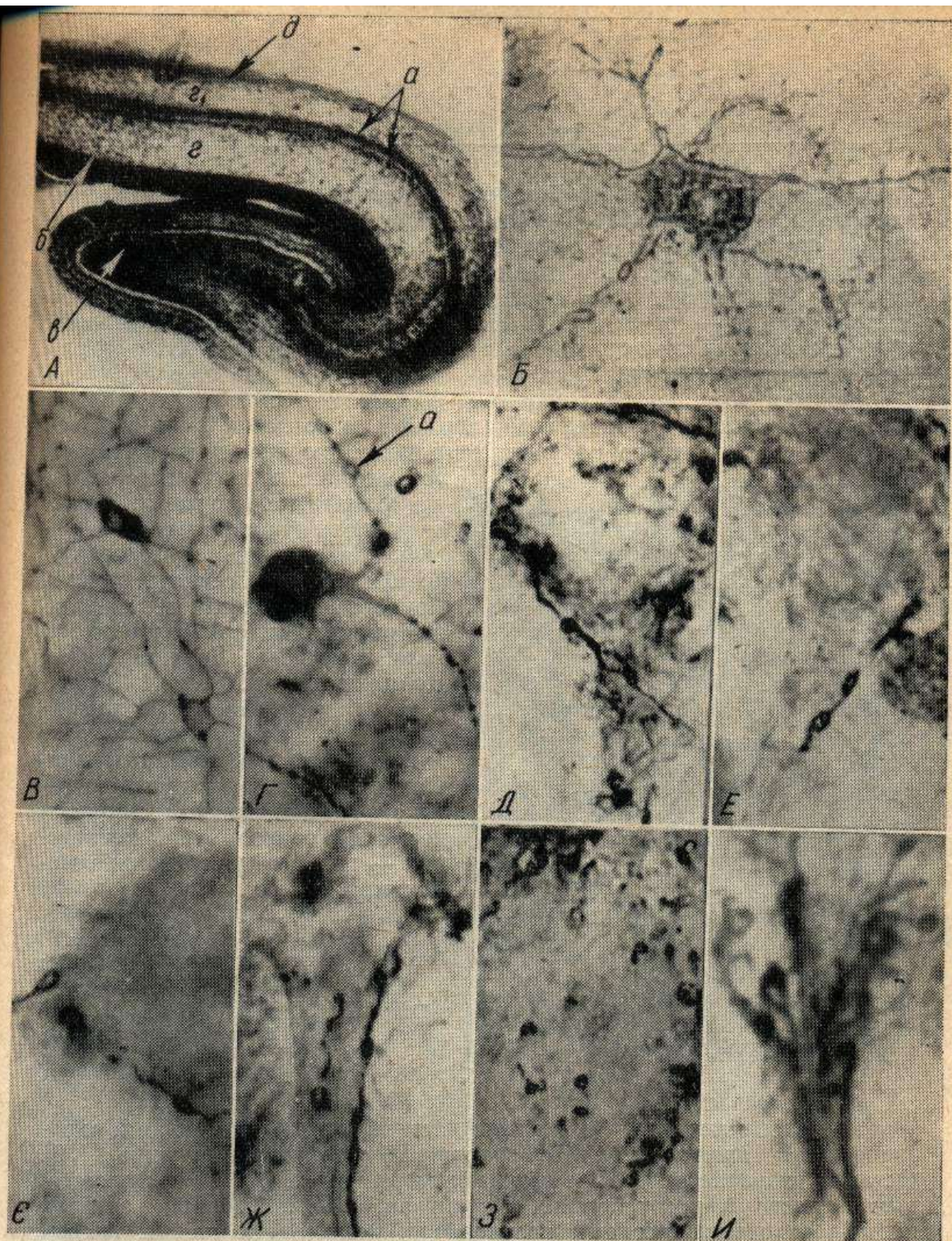


Рис. 1. А — реакція на АХЕ негативна у шарах і пірамідних та зернистих клітин. Ці шари виділяються світлими смугами. Шар тіл пірамідних клітин оточений холінергними сплетеннями Lam. supra — та infrapyramidalis (а), максимально інтенсивна реакція — в нижній частині stratum lacunosum і stratum moleculare (б) та у поліморфному ядрі зубчастої фасції (в), реакція середньої інтенсивності — в stratum radiatum і stratum oriens, (г, д), слабка реакція в stratum alveus (е). Мікрофотографія, збільш. 15×5 . Б — поліморфна — корзинчаста клітина, АХЕ-позитивні гранули розташовані в цитоплазмі клітини і численних її відростках. Збільшення 40×6 . В — позитивна реакція на АХЕ в поліморфних-корзинчастих клітинах, галузження дендритів яких утворюють холінергні сплетення у stratum radiatum. Збільшення 20×6 . Г — інтенсивна позитивна реакція на АХЕ в тілі і варикозитетах відростків поліморфних — корзинчастих клітин (ділянка «власного ядра» зубчастої фасції). Аксон (а) уходить у провідні шляхи fimbria, дендрит галузиться у холінергних сплетеннях зубчастої фасції. Збільшення 20×6 . Д, Е — позитивна реакція на АХЕ у цитоплазмі поліморфних корзинчастих клітин і більш інтенсивна у синаптичних бляшках, які утворюють контакти на протязі відростка і тіла клітини. Збільшення 100×6 . Ж — позитивна реакція на АХЕ у синаптичних бляшках на протязі апікального дендрита великої пірамідної клітини — аксо-дендритичні холінергні контакти. Сектор Н-3. Збільшення 100×6 . З — численні холінергні аксо-соматичні синапси на поверхні великої пірамідної клітини. Збільшення 100×6 . И — холінергні синапси навколо апікального дендрита малої пірамідної клітини зубчастої фасції. Збільшення 100×6 . (Розтягнуто при друкуванні.).

утворені як відростками поліморфних клітин цих шарів, так і дендритами поліморфних клітин *stratum radiatum*, а, крім цього, галуженнями колатералей аксонів поліморфних клітин, які піднімаються із *stratum oriens* (рис. 1, А). Найбільше скупчення поліморфних клітин має поліморфний шар зубчастої фасції («власне ядро» зубчастої фасції за Бехтеревим [1]) — секторів H_4 і H_5 . Галуження їх відростків утворює густе сплетення холінергних волокон, і тому реакція на АХЕ в цій ділянці особливо інтенсивна (рис. 1, А).

Завдяки тому, що в гіпокампі АХЕ-активність властива тільки поліморфним клітинам, ідентифікація АХЕ дозволяє вибірно виявляти саме ці елементи, тобто ця реакція являє собою спосіб ідентифікації

поліморфних клітин. Відомо, що різноманітність форм поліморфних клітин гіпокампа (горизонтальні, яйцевидні, веретеноподібні, півмісяцеві, псевдоуніполярні, зірчасті, багатокутні, пірамідальні, трикутні, за термінологією Кахалю, Бехтерева, Лоренте де Но, Дойнікова та ін. [1, 2, 4, 9]) викликала утруднення їх класифікації. Ми переконались у тому, що всі ці форми клітин (незважаючи на різницю будови) за ознакою АХЕ-активності слід віднести до одного типу холінергних — поліморфних нейронів гіпокампа.

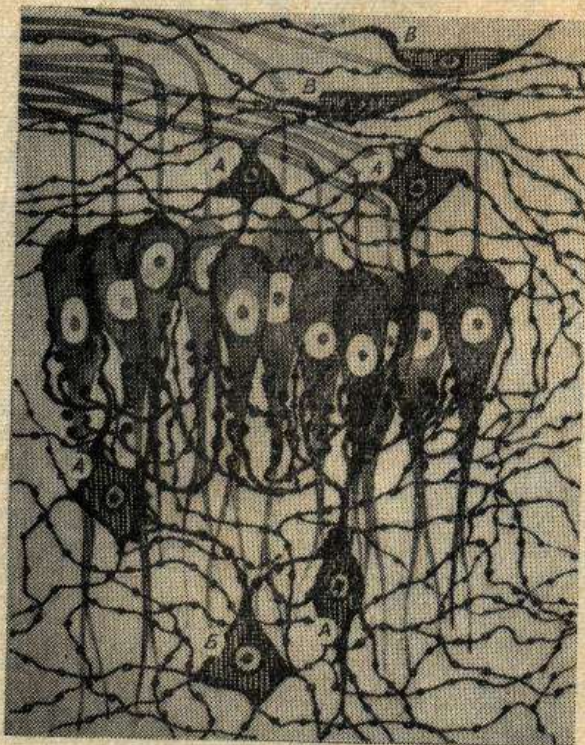


Рис. 2. Три типи зв'язків поліморфних холінергних нейронів гіпокампа.

А — холінергні «корзинчасті» клітини; Б — холінергні проміжні клітини внутрі-гіпокампальних зв'язків; В — холінергні нейрони поза-гіпокампальних зв'язків.

Але слід підкреслити, що тільки частина з них є справжніми «корзинчастими» клітинами, тобто виконують «сполучну» функцію [1, 9]. Останнє визначається не формою поліморфних клітин, а їх положенням відносно інших нейронів. «Корзинчасті» перицелюляри на тілах пірамід утворені: аксонами поліморфних холінергних клітин (різної форми), які піднімаються із *stratum oriens* та в меншій мірі аксонами таких же клітин, які низходять з *stratum radiatum*. Отже, гістохімічний метод підтверджує існування міжнейронних зв'язків, описаних нейрогістологами і зареєстрованих електрофізіологами.

Подібну «сполучну» функцію виконує і частина поліморфних холінергних нейронів «власного ядра» зубчастої фасції. Колатералі аксонів цих клітин закінчуються термінальними сплетеннями біля полюсів малих пірамідних клітин (за термінологією Кахалю і Бехтерева [1, 4]), які створюють гранулярний шар зубчастої фасції (рис. 1, В).

Щодо інших поліморфних — холінергних нейронів, то за типом зв'язків ми розрізняємо серед них дві групи: 1) мультиполяри (рис. 1, Б, В), дендрити яких багаторазово галузяться, утворюючи холінергні сплетення варикозних волокон; колатералі аксонів контактують з тілами багатьох поліморфних — холінергних нейронів, такі мультиполяри

являють собою проміжні нейрони, які об'єднують холінергні елементи гіпокампа; 2) біполярні (рис. 1, Г), які лежать на межі *stratum alveus* і *stratum oriens*, а також *stratum polymorphi* зубчастої фасції, дендриди цих нейронів приєднуються до навколишніх холінергних сплетень; аксони у вигляді безм'якушевих волокон з великими варикозитетами уходять з гіпокампа в провідних шляхах *stratum alveus* в напрямку до *fimbria*. Такі холінергні нейрони утворюють позагіпокампальні зв'язки; закономірності локалізації та зв'язків холінергних — поліморфних нейронів відображені на схемі (рис. 2).

Слід додати, що в провідних шляхах на межі *stratum moleculare* амонова рога в *Lam. medul. involuta*, за Бехтеревим [1], виявляються пучки холінергних безм'якушевих волокон з великими варикозитетами. Ми допускаємо, що вони можуть бути аксонами холінергних нейронів контралатерального гіпокампа, або інших ділянок іпсилатерального гіпокампа.

Отже, специфічна реакція на АХЕ виявляє у гіпокампі кролика систему холінергних міжнейронних зв'язків, функціональне значення якої має бути предметом дальшого дослідження.

Висновки

Дані гістохімічної ідентифікації АХЕ у гіпокампі кроликів дозволяють зробити деякі висновки:

1. Носіями АХЕ є поліморфні нейрони, колатералі яких утворюють холінергні сплетення в різних шарах гіпокампа.

2. За локалізацією і типом зв'язків поліморфні холінергні нейрони поділяються на три групи: а) «корзинчасті», які виконують «сполучну» функцію шляхом множинних контактів з пірамідними клітинами; б) проміжні, які забезпечують внутрі-гіпокампальні зв'язки усіх холінергних нейронів; в) холінергні нейрони, які утворюють позагіпокампальні зв'язки.

3. Колатералі аксонів «корзинчастих» клітин закінчуються аксо-дендритичними, аксо-соматичними холінергними синапсами на пірамідних нейронах. Отже, у пусковому механізмі синаптичної передачі від поліморфних нейронів до пірамідних бере участь ацетилхолін.

Як відомо з електрофізіологічних досліджень Андерсена, Екклса та ін. [3], поліморфні-корзинчасті клітини гіпокампа були віднесені до нейронів типу Реншоу, тобто нейронів, які виконують гальмівну функцію. Така сама функція була встановлена згаданими вище авторами для корзинчастих клітин мозочка. Трохи раніше в моховитих волокнах-аксонах корзинчастих клітин мозочка була виявлена ацетилхолінестеразна активність [5].

Наші дослідження показали, що аналогія між функціональною спеціалізацією корзинчастих клітин мозочка та гіпокампа поширюється і на їх гістохімічну характеристику. Це означає, що гальмівні клітини гіпокампа, як і гальмівні клітини мозочка здійснюють свою функцію за допомогою ацетилхоліну.

Література

1. Бехтерев В. М.— Проводящие пути спинного и головного мозга, 1898, II, 124.
2. Дойников Б. С.— Избр. труды по нейроморфол. и невропатол., М., 1955, 19.
3. Andersen P., Eccles Y., Loynning V.— J. Neurophysiol., 1964, 27, 592.
4. Gajal R.— Arch. Anat. Entwicklungsges., Lpz., 1893, 319.
5. Csillik B., Joo F., Kasa P.— J. Histochem., Cytochem., 1963, 11, 113.
6. Fleischhauer K.— Der Nervenarzt, 1959, 30, 305.