

ПРО ВМІСТ ГЛІКОГЕНУ ТА ФОСФОРИЛАЗИ В НЕЙРОНАХ ЯДЕР ДОВГАСТОГО МОЗКУ ІНТАКТНИХ НОВОНАРОДЖЕНИХ КОТЕНЯТ І ДОРОСЛИХ КІШОК

Л. А. Чайковська

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

В літературі є відомості про наявність глікогену в онтогенезі у різних відділах мозку, зокрема в довгастому, одержані біохімічними методами дослідження. За цими даними [9], у довгастому мозку новонароджених кішок та собак кількість глікогену максимальна. До п'яти — восьмирічного віку вона знижується, зберігаючись без змін у дорослих тварин.

Гістохімічні дані щодо вмісту глікогену в нейронах ядер довгастого мозку нечисленні і суперечливі. Деякі автори виявили глікоген у зародковому матеріалі [1, 6], виходячи з того, що для зародкового періоду розвитку характерний анаеробний тип обміну, і тому гліколіз є основним джерелом енергії нейронів. У постнатальний період діє система окислювального фосфорилювання, а гліколіз відступає на другорядний план, стаючи ніби резервним джерелом енергії [2]. Отже, можна припустити, що в постнатальному онтогенезі кількість глікогену та ферменту його синтезу має зменшуватись. На цьому ґрунтується припущення [7] про те, що у новонароджених, на ранньому етапі розвитку організму, спостерігається підвищена кількість глікогену в нейронах верхнього шийного симпатичного ганглію (ВШСГ).

Є праці присвячені глікогену у дорослих мишей, щурів, морських свинок, кроликів у різних відділах мозку [14]. При цьому відзначено, що в нейронах ретикулярної формації (РФ) довгастого мозку глікоген виявляється слабо.

Шабадаш [7] вивчав розподіл глікогену в рухових ядрах довгастого та спинного мозку, спинномозкових вузлах дорослих кішок і детально описав локалізацію глікогену в тілі нейрона та його дендритах. Автор відзначає відсутність полісахариду в аксонному горбку і аксонах. Йому вперше вдалося виявити глікоген в синаптичних бляшках на нейронах ВШСГ і зірчастого вузла. Наявність глікогену в синаптичних бляшках навколо нейронів РФ, біля деяких чутливих та рухових ядер була згодом підтверджена в літературі [3].

Гретен [4], як і Шабадаш, з допомогою вуглеводного навантаження вивчав процес накопичення глікогену в нервових структурах вегетативних вузлів і спинного мозку дорослих кішок. Він також виявив глікоген у тілі нейрона та синаптичних бляшках.

В літературі описаний розподіл у мозку молодих та дорослих гризунів ферменту фосфорилази з допомогою гістохімічних методів [5]. Інтенсивну активність фосфорилази в мозку спостерігали Ібрагім та ін. [11].

В нейронах РФ довгастого мозку рептилій Косіцин з співробітниками [5] не виявили фосфорилази гістохімічними методами, а електронномікроскопічно не знайшли глікоген.

Метою даного дослідження є паралельне вивчення вмісту та локалізації глікогену і ферменту його синтезу — фосфорилази в нейронах ядер довгастого мозку інтактних новонароджених котенят та дорослих кішок; вирішення питання про те, чи свідчить стан глікогену і фосфорилази про ступінь зрілості нейронів ядер довгастого мозку.

Гістохімічними методами дослідження обрані: реакція на глікоген за Шабадашем [7], реакція на фосфорилазу за Фрідом [12] і Такеуші [16] в модифікації Еренко і Палкама [10]. Обслідували мозок 12 новонароджених інтактних котенят і 12 дорослих інтактних кішок.

Вміст глікогену в нейронах ядер довгастого мозку інтактних новонароджених котенят

У довгастому мозку новонароджених котенят інтенсивність реакції глікогену в різних ядрах неоднакова. Максимальною інтенсивністю реакції відзначаються pXII , pXa та pIt довгастого мозку, а також поодинокі нейрони гігантоклітинного ядра РФ. В межах кожного ядра інтенсивність реакції в нейронах різноманітна, що може залежати від особливостей їх функціонального стану в момент фіксації (рис. 1, *a*). В цитоплазмі нейронів глікоген може бути крупногранулярним, дрібногранулярним, дифузним і дифузногранулярним. Частіше на фоні дифузного забарвлення цитоплазми нейрона спостерігаються гранули глікогену, що заповнюють перикаріон, інколи вони накопичуються навколо ядра або в аксонному горбку. В ядрах нейронів реакція на глікоген негативна, вони «порожні», чітко контуровані з рівними краями, але інколи позитивна реакція глікогену спостерігається на хромосомно-ядерцевому апараті. У відростках глікоген розподіляється дифузно або дифузно-гранулярно, при цьому крупні гранули видовжуються, набувають овальної або паличковидної форми. Завдяки тому, що аксони бувають заповнені глікогеном, вони простежуються на далеку відстань за межами ядра, аж до їх синаптичних терміналей. Так, нам вдалось прослідкувати вихід аксона нейрона pXd — до РФ, де він закінчується заповненими глікогеном синаптичними бляшками, на «порожньому» нейроні РФ. Як було відзначено, в РФ тільки один-два гігантоклітинних нейрона та їх відростки містять глікоген. Нейропіль РФ безколірний — глікоген не виявляється. У синаптичних бляшках реакція на глікоген інтенсивна, але не постійна. Якщо вони заповнені глікогеном, то виявляється різноманітність їх форм. Трапляються округлі бляшки, грушевидні, овальні. Терміналі обплітають тіла та відростки клітин. Залежно від заповнення глікогеном терміналі забарвлюються в темно-малиновий колір і мають вигляд чітко контурованих краплин, або заповнені дрібними зернами з різноманітною інтенсивністю забарвлення.

В сателітарній глії також виявляється позитивна реакція на глікоген. Інтенсивність її різноманітна. Спостерігається дифузне розміщення гранул глікогену в гліоплазмі, дрібно та крупногранулярне. Трапляються переповнені глікогеном сателітарні клітини, ядра їх не помітні, а тіла клітин мають вигляд зернистих малинових шарів, що лежать на поверхні нейронів (5—8 μm). Коли цитоплазма і відростки глії не дуже заповнені глікогеном, просвічуються їх овальні незабарвлені ядра, вдається побачити відросткову форму клітин і розташування їх на тілах нейронів, при цьому можна порахувати кількість гліальних

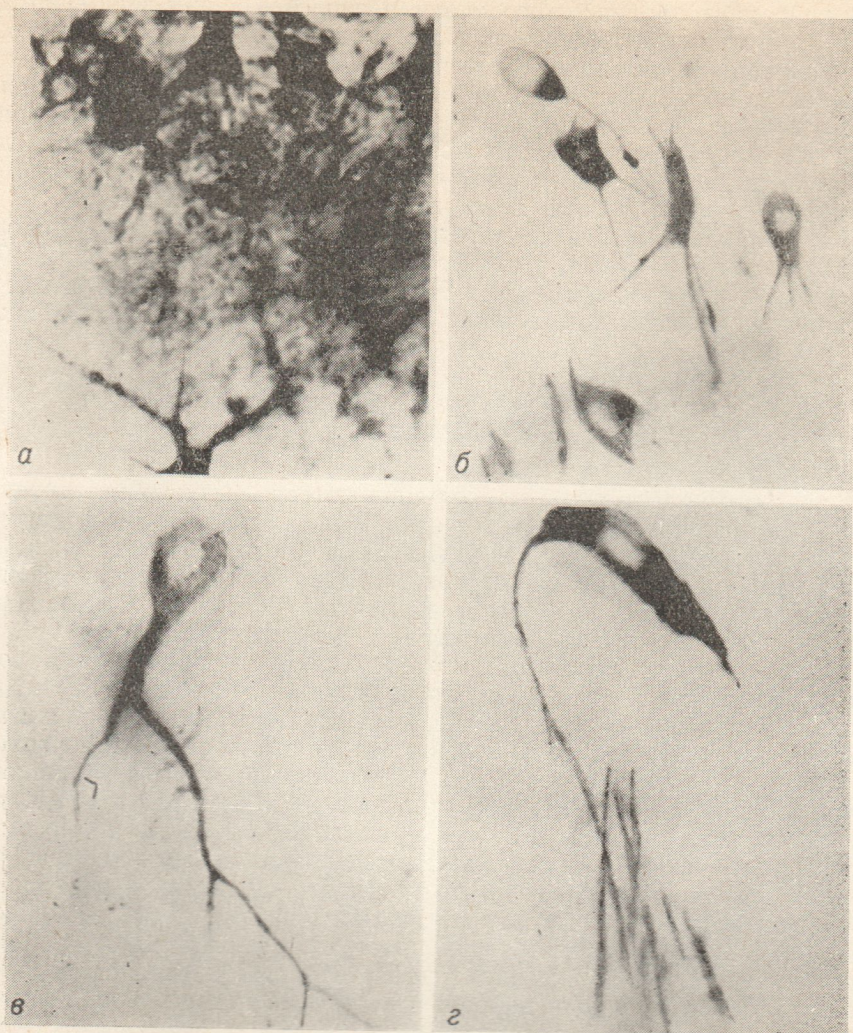


Рис. 1. Порівняння вмісту глікогену в нейронах інтактних новонароджених котенят і дорослих кішок. Реакція Шабадаша: 3б. 25×6.

а — група нейронів заповнених глікогеном, новонароджене котеня, пХІІ; *б* — різниця між вмістом глікогену в групі нейронів, доросла кішка, пХІІ; *в* — слабка реакція в тілі нейрона і інтенсивна в його відростку, що виходить за межі п. Ambigus, новонароджене котеня; *г* — п. Ambigus, позитивна реакція в тілі нейрона і відростку, який приєднується до пучка волокон, що містять глікоген, доросла кішка.

клітин на поверхні одного нейрона. Залежно від величини нейрона на його поверхні можна налічити від трьох до дев'яти сателітарних клітин. Заповнені глікогеном гліальні клітини виявляються на тілах нейронів, що мають різну інтенсивність реакції. При цьому інтенсивність реакції в глії перевищує реакцію глікогену в нейроні. Трапляються безбарвні нейрони, в яких нема глікогену, проте чітко виявляються на їх тілах сателітарні клітини, завдяки інтенсивній реакції глікогену в них. Слід відзначити, що тільки в сателітарній (олігодендроглії) глії, яка прилягає до нейрона, є глікоген, в інших гліальних елементах мозку застосовані реакції глікоген не виявляють. Зрідка слабопозитивна реакція глікогену відзначається в клітинах шваннівської глії, яка супроводжує аксони.

Вміст фосфорилази в нейронах ядер довгастого мозку інтактних новонароджених котенят

Реакція фосфорилази, як і глікогену, неоднаково протікає в нейронах різних ядер. Найбільш інтенсивно вона виражена в pXII , pXa , pIt , що співпадає з інтенсивністю реакцій глікогену. В межах одного ядра інтенсивність реакції також різноманітна, в цитоплазмі більшості нейронів реакція фосфорилази інтенсивна і фермент розподілений нерівномірно. В ядрах нейронів фосфорилази не спостерігається, проте ядерце може мати позитивну реакцію різної інтенсивності. Фосфорилаза проникає на деяку відстань у відростки. У синаптичних бляшках реакція фосфорилази інтенсивна, вони різною мірою заповнені ферментом. Кінцеві структури (реакція Фріда — яскравомалинові, реакція Такеуші — темносині) виявляються на тілах нейронів. Інтенсивність забарвлення терміналей також може бути різноманітною. Очевидно, ступінь концентрації ферменту як у нейронах, так і в термінальних утвореннях, може відбивати функціональний стан нейрона. Сателітарна глія нейрона також містить фосфорилазу.

Таким чином, у новонароджених котенят гліо-невральні комплекси ядер довгастого мозку містять глікоген і фосфорилазу, які забезпечують глікогеноліз. Різниця у вмісті глікогену і фосфорилази в ядрах довгастого мозку новонароджених може пояснюватись неоднаковим споживанням вуглеводу різними за функцією ядрами; різним ступенем зрілості ядер у період народження.

Наявність глікогену в синаптичних бляшках та різний ступень заповнення їх глікогеном може свідчити про те, що глікоген використовується при синаптичній передачі; в такому разі слід гадати, що у новонароджених функціонує частина рефлексорних дуг, які замикаються в ядрах довгастого мозку. За нашими спостереженнями, в синаптичні бляшки глікоген може потрапляти з потоком аксоплазми.

Вміст глікогену в нейронах ядер довгастого мозку у інтактних дорослих кішок

На відміну від довгастого мозку новонароджених, реакція на глікоген відзначається не в усіх нейронах ядер, а тільки в нечисленних групах нейронів ядер. Так, інтенсивна реакція на глікоген спостерігається в поодиноких групах нейронів pXII , тоді як в останніх нейронах цього ядра реакція слабка, специфічне забарвлення ніжнорожеве (рис. 1, б). В pXa глікоген містить поодинокі нейрони. Вся інша маса нейронів має мінімальну або негативну реакцію на глікоген. В гігантоклітинному ядрі РФ слабопозитивна реакція тільки в окремих нейронах. Розподіл глікогену в нейронах і відростках такий же, як у новонароджених. Аксони, що містять глікоген, простежуються далеко до вступу їх у пучки провідникових шляхів або в інші ядра (рис. 1, г). В ядрах нейронів позитивна реакція на глікоген у хромосомно-ядерцевому апараті. Як і у новонароджених, виявлена максимальна, але не постійна реакція глікогену в кінцевих синаптичних бляшках і транзиторних волокнах, що обплітають тіло та відростки нейрона.

Для сателітарної глії дорослих тварин характерна інтенсивна реакція глікогену, але вона також непостійна. На поверхні одного нейрона можуть траплятися гліальні клітини з різним вмістом глікогену. Як на ясних нейронах, що не містять глікогену, так і на темних нейронах, може бути яскравопозитивна реакція глікогену в сателітарній глії.

Вміст фосфорилази в нейронах ядер довгастого мозку інтактних дорослих кішок

Найбільша інтенсивність реакції фосфорилази на окремих нейронах pXII , pXa , pIt ; в РФ тільки поодинокі нейрони гігантоклітинного ядра містять фосфорилазу. У цитоплазмі нейронів фермент розподіляється нерівномірно. У ядрах реакція може виявитися тільки на хромосомно-ядерцевому апараті. У відростки нейронів фосфорилаза захо-

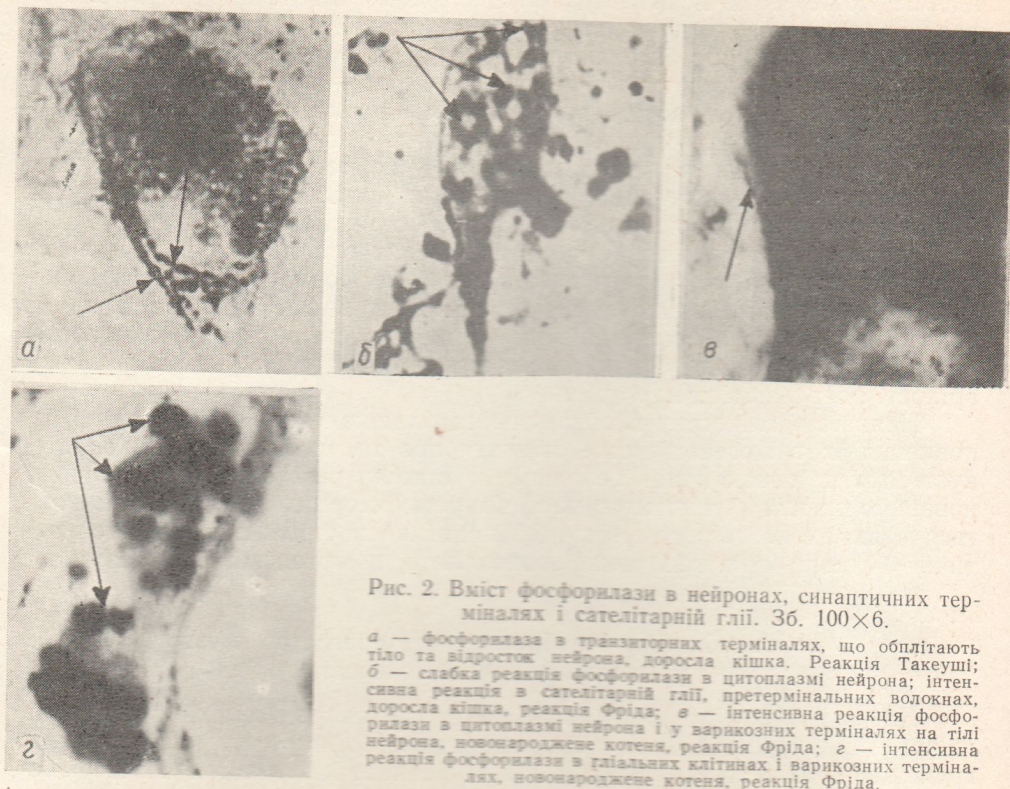


Рис. 2. Вміст фосфорилази в нейронах, синаптичних терміналях і сателітарній глії. 3б. 100×6 .

а — фосфорилаза в транзитних терміналях, що обплітають тіло та відросток нейрона, доросла кішка. Реакція Такеуші; б — слабка реакція фосфорилази в цитоплазмі нейрона; інтенсивна реакція в сателітарній глії, претермінальних волокнах, доросла кішка, реакція Фріда; в — інтенсивна реакція фосфорилази в цитоплазмі нейрона і у варикозних терміналях на тілі нейрона, новонароджене котеня, реакція Фріда; г — інтенсивна реакція фосфорилази в гліяльних клітинах і варикозних терміналях, новонароджене котеня, реакція Фріда.

дить на невелику відстань. У дорослих кішок синаптичні бляшки і транзитні варикозні терміналі, завдяки позитивній реакції фосфорилази, добре видно (рис. 2, а, в). Синаптичні бляшки, що містять фосфорилазу, виявляються на нейронах з різним рівнем вмісту ферменту. Інтенсивність реакції в синаптичних терміналях різноманітна, від максимальної до слідової. На безбарвних, що містять глікоген, нейронах і в нейропії РФ також трапляється багато синаптичних терміналей з інтенсивною реакцією ферменту. Сателітарна глія дорослих кішок містить багато фосфорилази, але інтенсивність реакції в клітинах, що лежать на одному нейроні, може бути різною (рис. 2, б, г). Сателітарну глію, заповнену ферментом, буває дуже добре видно як на ясних нейронах, так і на темнозabarвлених нейронах. Інколи на темних нейронах можна бачити ясні контури спустошеної глії з слідовою реакцією ферменту.

Отже, у дорослих кішок, як і у новонароджених, глікоген і фосфорилаза містяться в певних ядрах довгастого мозку. На відміну від новонароджених у дорослих кішок інтенсивна реакція глікогену і фосфорилази є тільки в окремих групах нейронів тих самих ядер.

Обговорення результатів досліджень

На підставі даних літератури про хімічну диференціацію нейронів в онтогенезі [6], виявлений нами неоднаковий вміст глікогену і фосфорилази в нейронах різних ядер і одного ядра можна було б пояснити неодноразовою диференціацією нейронів до здатності синтезу глікогену. У такому разі у дорослих тварин нейрони всіх ядер повинні містити приблизно однакову кількість глікогену. Але ми бачимо, що у дорослих тварин, як і у новонароджених, зберігається закономірна нерівномірність розподілу глікогену і ферменту глікогенолізу — фосфорилази в різних ядрах. Так, у новонароджених і дорослих тварин максимальна кількість глікогену і фосфорилази характерна для pXII , pXa та pIt . Проте у дорослих тварин в межах цих ядер диференціюються лише групи нейронів, які зберігають інтенсивний гліколітичний обмін. Очевидно, певні функціональні групи нейронів, розташовані в даних ядрах, зберігають здатність до синтезу глікогену протягом усього онтогенезу.

Наші спостереження щодо локалізації глікогену і фосфорилази в перикаріоні та відростках дозволяють уточнити ці уявлення. З праць Шабадаша [7] утвердився погляд, що глікоген локалізується лише в перикаріоні та дендритах, не проникаючи в аксони. Ці дані пов'язані, очевидно, з уявленням про необхідний зв'язок локалізації глікогену з структурами речовини Ніссля. Проте Шіміцу та ін. [14] спостерігали глікоген не лише на гранулах речовини Ніссля, але «частіше між глибками». Гретен [4] вважає, що «синтез і нагромадження глікогену починається з поверхні нейрона, поступово поширюючись в перикаріон, переходить стадію «вільного» глікогену і лише потім включається до складу нісслевської речовини».

Електроннограми нейронів показують, що локалізація гранул глікогену не пов'язана з мембранами і цистернами нісслевських структур [13]. Ми в усіх випадках бачимо глікоген і фосфорилазу в перикаріоні і відростках. Простежується вивільнення перикаріону від глікогену, зниження його до аксонного горбка та відростків. Глікоген міститься і в аксонах провідникових шляхів довгастого мозку.

Наявність глікогену і фосфорилази в синаптичних бляшках і термінальних волокнах може свідчити про «автономний» синтез глікогену в цих структурах, про що пишуть Косицин та співавтори [5]. Ми підтверджуємо можливість такого процесу, тому що ідентифікуємо в синаптичних бляшках не тільки глікоген і фермент його синтезу — фосфорилазу, але й вважаємо, що глікоген може надходити в терміналі також з аксотоком з перикаріону, оскільки ми простежуємо заповнені глікогеном аксони від тіла нейрона до синаптичних терміналей.

Ми можемо підтримати уявлення Гретена [4] про те, що синтез глікогену здійснюється у відростках, оскільки фосфорилаза спостерігається не лише в перикаріоні та синапсах, а і у відростках.

Слід спинитись на питанні про участь сателітарної глії в обміні глікогену. Шабадаш [7] при вивченні вмісту глікогену в нейронах ядер спинного мозку підкреслює, що «за тих самих фізіологічних умов, коли нервові клітини багаті на глікоген, уся маса гліозної речовини вільна від глікогену». При цьому автор, незважаючи на мінімальний вміст глікогену в глії, припускає, що в ній здійснюється «запасне депонування вуглеводних продуктів симбіотичною тканиною для забезпечення істинних споживачів — нейронів» (стр. 121, 1949). До такого висновку Шабадаш приходить після твердження, що лише окремі клітини глії містять мінімальну кількість глікогену. Глікоген в гліальних клітинах білої речовини мозку щурів, кроликів і морських свинок виявили Шіміцу і Кумамоту [14], а також Гретен — в олігодендроцитах, розмі-

щених за ходом аксонів мотонейронів спинного мозку. Генчев [3] виявив глікоген у глії, що прилягає до нейрона.

В нашому матеріалі паралельна ідентифікація глікогену і фосфорилази закономірно виявляє вміст вуглеводу та ферменту його синтезу в сателітарній глії нейронів довгастого мозку. Проте ми не можемо підтвердити встановлену Генчевим [3] закономірність «нейрогліального антагонізму»: «Якщо в тілі нейрона глікоген — то близько розташована (гліальне гніздо) клітинна субстанція бідна на глікоген. Навпаки, інтенсивне перигангліонарне накопичення спостерігається тільки навколо бідних на глікоген нейронів». Такий «антагонізм» ми не спостерігали перш за все тому, що в самих гліальних клітинах, які обгортають нейрон, реакція на глікоген і фосфорилазу може бути різною. На нейронах, що депонують глікоген, можна бачити насичені глікогеном сателітарні клітини, так само як і на нейронах, в яких відсутній глікоген, можна бачити спустошену глію.

Спостерігаючи постійну функціональну варіабільність вмісту глікогену як у нейронах, так і в глії, створюється враження, що в клітинах сателітарної глії кількість глікогену і фосфорилази дещо вища, ніж у нейроні. В інших гліальних елементах мозку глікоген і фосфорилаза не виявляються, за винятком нечисленних шваннівських клітин, які супроводжують аксони. Це останнє явище непостійне і спостерігається рідко.

В цитоплазмі гліальних елементів, як і в нейроплазмі, простежуються всі стадії переходу глікогену від дифузного до гранулярного стану. Неоднакова завантаженість гліальної плазми глікогеном дозволяє виявити різні стадії синтезу: округлі, заповнені інтенсивно забарвленими гранулами глікогену гліальні клітини (з поперечником 8—9 мк) або зірчасті багатовідросткові гліальні клітини, в цитоплазмі яких трапляються всі стадії глікогену: слідове забарвлення, дрібний слабо-забарвлений порошок, окремі малинові гранули. Все це свідчить про те, що сателітарна глія нейронів довгастого мозку має властивість так само синтезувати глікоген, як нейрони. У зв'язку з цим цікаво відзначити, що глія нейронів, які не синтезують глікоген (як, наприклад, більшість нейронів РФ), не містить ні глікогену, ні фосфорилази.

Таким чином, не можна говорити про ізолюваний синтез глікогену в нейронах або в глії, цей процес відбувається в гліоневральному комплексі.

В частині ядер довгастого мозку нейрогліальні комплекси не вміщують глікогену і фосфорилази, напевно не синтезують глікогену, тобто метаболічні процеси в них протікають без участі глікогену.

Висновки

Інтенсивність реакції на глікоген та фосфорилазу в нейронах новонароджених вища, ніж у дорослих, що може бути пов'язане з перевагою анаеробного обміну.

Різниця між вмістом глікогену і фосфорилази в частині нейронів і синаптичних бляшок, що відповідає функціональним витратам, спостерігається у новонароджених тварин. Таким чином, ці нейрони при народженні вже функціонують.

У новонароджених встановлено принцип гліо-невральних відношень, при яких глікоген міститься і в сателітарній глії, і в нейронах, а фермент переважно в сателітарній глії.

Оскільки в гліо-невральному комплексі певних груп нейронів дорослих кішок зберігається інтенсивність реакції глікогену і фосфорилази, то слід вважати, що ці функціональні групи нейронів на протязі усього життя зберігають процеси гліколізу.

Література

1. Буйкис И. М.— В сб.: Пробл. функц. морфол., Рига, 1963, 2, 5.
2. Вержбинская Н. А., Савина М. В.— Журн. эвол. биохим. и физиол., 1965, 1, 1, 26.
3. Генчев Т.— В сб.: Структура и функция нервн. сист., М., 1962, 110.
4. Гретен А., Соколова Г., Суслина М.— Соврем. методы морфол. исслед., М., 1969, 59.
5. Косицын Н., Бабакова Л., Чунаева М.— ДАН СССР, 1970, 194, 3, 698.
6. Корочкин А.— Цитология, 1965, VII, 1.
7. Шабадаш А.— Гистохимия гликогена нормальной нервной системы, М., 1949.
8. Шевелева В.— Журн. эвол. биохим. и физиол., 1968, IV, 158.
9. Chesler A., Himwich H.— Arch. Biochem., 1943, 2, 175.
10. Eränkő O., Palkama A.— J. Histochem. Cytochem., 1961, 9, 585.
11. Ibrahim M., Castellani P.— Histochem., 1968, 16, 9.
12. Friede R.— Arch. Psychiatr. Neurolog., 1956, 195, 3, 325.
13. Rosenbluth J.— Z. Zellforsch. microscop. Anat., 1963, 60, 2, 213.
14. Shimizu N., Kumamoto T.— Anat. Res., 1952, 114, 3, 479.
15. Shimizu N., Kubo Z. et al.— J. Histochem. Cytochem., 1957, 5, 459.
16. Takeuchi T., Kuriaki H.— J. Histochem. Cytochem., 1955, 3, 153.

Надійшла до редакції
19.II 1971 р.

ON THE GLYCOGEN AND PHOSPHORYLASE CONTENT OF THE MEDULLA OBLONGATA NUCLEI NEURONS IN INTACT NEWBORN KITTENS AND ADULT CATS

L. A. Chaikovskaya

Laboratory of Nervous System Morphology, the A. A. Bogomoletz Institute of Physiology, Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev

Summary

The glycogen and phosphorylase contents were determined by the methods of Shabadash, Reinhardt and Takeuchi in the medulla oblongata nuclei neurons of intact newborn kittens and adult cats. Intensity of the reaction to glycogen and phosphorylase in neurons of newborn animals is higher than in adult ones, which might be associated with a predominance of anaerobic metabolism. Differences in a part of neurons and synapses reflecting their functional expenditures are detected in newborn animals. Hence, these neurons are in the state of functioning by the moment of birth.

By the moment of birth a principle of glia-neural relations is established when glycogen is contained in satelitary glia and in neurons, and the enzyme is chiefly in satelitary glia. As in adult animals the maximum reaction intensity of glycogen and phosphorylase in the glia-neural complex of certain neuron groups is preserved, hence these functional groups of neurons preserved glycolysis during the whole life.