

П. В. МАКАРОВ

ИЗМЕНЕНИЯ СТРОЕНИЯ ЯДЕР ГАНГЛИОЗНЫХ КЛЕТОК ПОД ВЛИЯНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ РАЗДРАЖИТЕЛЕЙ

(Представлено академиком Л. А. Орбели 10 V 1948)

Недавно мною ^(1,2) был приведен ряд аргументов, говорящих о микроскопической однородности, бесструктурности ядер самых разнообразных клеток. Оказалось, что четырехокись осмия (OsO_4) сохраняется на постоянных препаратах строение ядра, адекватное прижизненному. После воздействия раздражающих факторов образуются заново микроскопические ядерные структуры. Эти данные были получены на ядрах, богатых тимонуклеиновой кислотой. При их интерпретации возможны ссылки на то, что эта ядерная компонента как бы маскирует имеющиеся структуры, а изменения морфологии ядра при тех или иных воздействиях являются результатом лишь ее перераспределения. Гипотетическая же постоянная структура ядра при этом остается неизменной.

Для проверки правильности подобных предположений и в целях дальнейшего исследования строения ядра мною была проведена серия экспериментов на спинномозговых ганглиях лягушки. Этот объект обладает рядом преимуществ. Крупные ядра нервных клеток содержат малые количества дезоксирибозонуклеиновой кислоты, едва уловимые при обработке по Фельгену. Вместе с тем ганглии, благодаря своей небольшой величине, прекрасно фиксируются осмием на всю глубину.

Ганглии обрабатывались в течение 3 час. 0,25—0,5% OsO_4 на 0,02% $NaHCO_3$, затем переносились на сутки в смесь 3% $K_2Cr_2O_7$ с формалином (8:2). В последней материал дофиксировался и одновременно, благодаря окислению бихроматом восстановленного осмия, становился более светлым. Заливка производилась через хлороформ в парафин. Срезы окрашивались гематоксилином Бемера с эозином, железным гематоксилином и метиленовой синью Леффлера. Реакция Фельгена из-за низкого содержания тимонуклеиновой кислоты для данного объекта мало эффективна.

Ядра нервных клеток, фиксированных OsO_4 непосредственно после извлечения ганглиев из тела лягушки или же после пребывания их в рингеровской жидкости, как правило, являются совершенно бесструктурными (рис. 1, а). Ядерный материал равномерно, правда, не очень интенсивно, окрашивается основными красителями. Четко выступают крупные базофильные ядрышки, содержащие иногда светлые вакуоли. В ядрах имеется одно, изредка два ядрышка. Каких-либо нитчатых структур, столь обычных на фиксированном материале (рис. 1, е) обнаружить не удается. Лишь в немногих ядрах, кроме ядрышка, окрашиваются 2—3 небольших округлых тельца. Ядерная оболочка как морфологическое образование также не видна. Ядра выделяются на фоне окружающей цитоплазмы благодаря иной окрашиваемости, однородности и, судя по микроскопической картине плотности. В этом отношении картина соответствует тому, что наблюдалось мною ⁽³⁾ в данных клетках при жизни.

Можно различить два типа ядер ганглиозных клеток. Одни из них, встречающиеся главным образом в более крупных нейронах, относительно плотные. Контур их часто неровный, от поверхности ядра могут отходить небольшие выросты или, наоборот, в нее вдактся

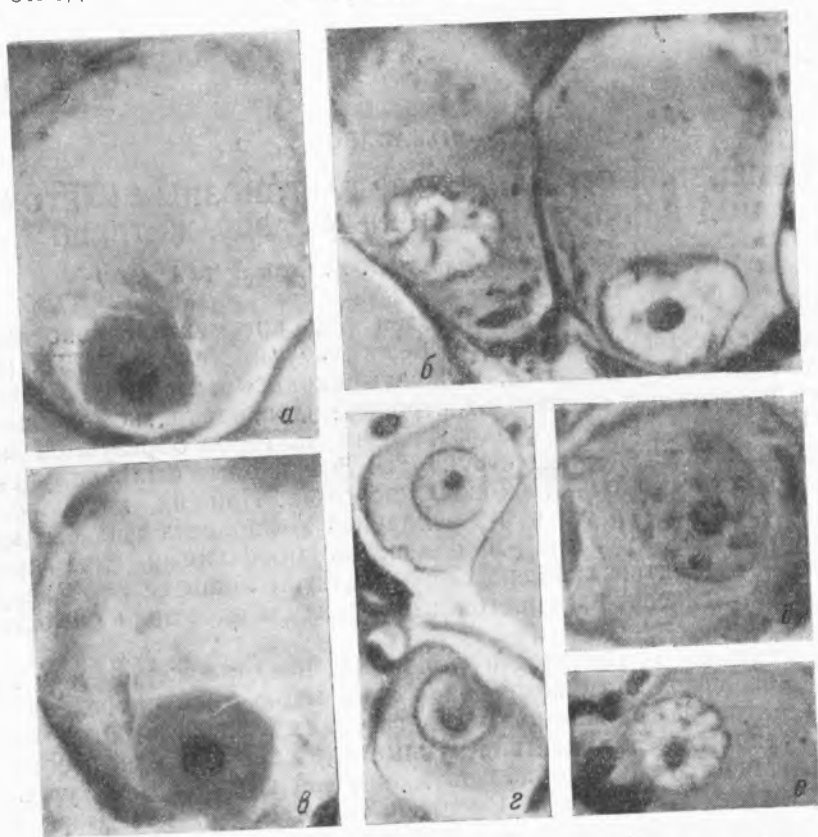


Рис. 1. Нервные клетки спинномозговых ганглиев лягушки: *a* — контроль, OsO_4 ; *б* — 0,06% уксусная кислота 15 мин., OsO_4 ; *в* — 0,06% уксусная кислота 15 мин., рингеровская жидкость 1 час, OsO_4 ; *г* — 12° спирт 15 мин., OsO_4 ; *д* — возбуждение через нерв 20 мин., OsO_4 ; *е* — фиксация по Бранка. Окраска гематоксилином Бемера с золином. Микрофото, объектив 90 \times , окуляр 10 \times

участки цитоплазмы. Форма таких ядер не шаровидная, а эллиптическая. Они слегка сплющены и лежат в наружных частях клетки. Другой тип ядер отличается округлой формой, гладким контуром, центральным положением в клетке и как будто более жидким содержанием. Во всяком случае, эти ядра красятся слабо и не обладают восковидным блеском, характерным для первого типа. Они встречаются обычно в более мелких клетках. Цитоплазма нервных клеток обладает неясной зернистой структурой. Здесь нередко выступают многочисленные капельки жира. Тельца Ниссля окрашиваются лишь как исключение, в клетках, видимо, поврежденных во время препаровки. Таково строение тела сенсорных нейронов в норме. Ядра клеток-сателлитов, а также соединительнотканых окрашиваются очень интенсивно, они гомогенны.

Здесь небезинтересно отметить, что в нервных волокнах после фиксации OsO_4 , не вызывающей коагуляции, при окраске гематоксилином довольно четко выявляются нитчатые структуры, соответствующие нейрофибриллам. Мне кажется, что это обстоятельство могло бы послужить одним из аргументов в пользу предсуществования

нейрофибриллей, которые обнаруживаются при жизни лишь на небольшом числе объектов (4).

Для выявления динамичности строения ядра применялось действие различных, преимущественно неспецифических раздражителей (кислоты, наркотики, сверхоптимальная температура, гипотония). В этом случае агент действовал на ганглий в целом. Затем проводилась фиксация материала OsO_4 . Об оказываемом эффекте выносилось суждение по микроскопической картине. Прижизненные изменения были описаны мною (3) ранее. Тем же методом исследовались изменения ганглиозных клеток, возникающие при раздражении индукционным током седалищного нерва.

Особенно отчетливые, резкие изменения обнаруживаются в ядрах под влиянием слабых растворов уксусной кислоты (0,03—0,06% на рингеровской жидкости), этого излюбленного агента для подобного рода экспериментов (5). В ядрах возникают зернисто-сетчатые структуры (рис. 1, б), не отличимые от тех, которые наблюдаются на препаратах, обработанных „хорошими“ ядерными фиксаторами (рис. 1, е). По общему виду таких клеток нельзя было и думать о том, что они живы. Однако после перенесения ганглиев в чистый рингеровский раствор ядерные структуры вскоре полностью исчезают и ядра на фиксированных OsO_4 препаратах вновь приобретают гомогенное строение (рис. 1, в). Эту манипуляцию можно повторять на одном и том же ганглии несколько раз подряд с одним и тем же неизменным результатом. Так мною был осуществлен следующий опыт.

Спинальные ганглии после их изоляции помещались в рингеровскую смесь. Часть из них фиксировалась OsO_4 и служила контролем, большинство же погружалось на 15 мин. в 0,06% уксусную кислоту. Затем одна порция таких ганглиев обрабатывалась OsO_4 в том же сосуде, в котором находился контрольный материал, другая переносилась в раствор Рингера. Спустя 1 час некоторое количество ганглиев фиксировалось, остальные снова погружались в 0,06% уксусную кислоту. Через 15 мин. часть ганглиев снова фиксировалась, часть перекадывалась в рингеровскую жидкость. Из последней, после пребывания в ней в течение 1 часа, часть материала фиксировалась, а часть в третий раз подвергалась воздействию 0,06% уксусной кислоты. Каждый раз в клетках, непосредственно извлеченных из уксусной кислоты, ядра на препаратах были резко структурированными, в то время как после пребывания в рингеровском растворе они представлялись однородными, такими же, как в контрольном материале.

Мне кажется, что приведенные данные служат убедительным доказательством в пользу лабильности ядерных структур и наглядно свидетельствуют против предположения о возможном гомогенизирующем действии, оказываемом четырехокисью осмия. Все остальные испытанные мною раздражители в известных дозах вызвали образование структур в ядре. В действии каждого из этих агентов можно отметить свою специфику, как это указывалось мною ранее (1). Так, под влиянием этилового спирта ядро становится мелкозернистым, очень четко выступает ядерная оболочка (рис. 1, г). В гипотонической среде (H_2O с содой) образуются волокнисто-сетчатые структуры, глыбки и зерна в этом случае выражены неясно, отмечается тенденция к разрушению, растворению ядрышек и т. д.

Особого обсуждения заслуживают опыты по влиянию на структуру ганглиозных клеток бегущих волн возбуждения при раздражении седалищного нерва индукционным током, т. е. специфическим раздражителем. Для этих опытов ганглии отпрепаровывались вместе с нервными стволами, иннервирующими мышцы задней конечности. Прежде всего определялся порог возбудимости для мышц, затем расстояние между катушками уменьшалось примерно в 2 раза. При

таком положении прибора нерв раздражался в течение 15 мин. Затем ганглии отрезались и фиксировались осмием. В тот же раствор фиксатора помещался и контрольный материал.

Желатинизацию ядер и появление зернистости в цитоплазме обнаружили, пользуясь методом ультрамикроскопии, С. Степанова и Е. Крохина⁽⁶⁾ в парасимпатических клетках сердца после раздражения вагуса индукционным током. Влияние фарадического тока на спинномозговые ганглии млекопитающих исследовал Гиден⁽⁷⁾. По его данным, в этих условиях в нервных клетках происходит накопление рибозонуклеиновой кислоты и минеральных солей, а также наблюдается ряд других изменений. В моих опытах, как правило, можно было отметить структуризацию ядер ганглиозных клеток, но своеобразного облика. В них обнаруживаются округлые, довольно крупные глыбки, иногда заполняющие все пространство ядра (рис. 1, д). Сетчатых образований выявить не удалось. Нельзя, однако, не отметить, что подобного рода альтерации при действии специфического раздражителя наблюдаются не во всех опытах. Иногда, при тех же условиях эксперимента, ядра не отличимы от контроля. Чем обусловлена такая неоднотипность результатов, сейчас сказать трудно.

При действии кислот, наркотиков и других легко дозируемых агентов, варьируя сроки и концентрации, а также исследуя нервные клетки, залегающие на разной глубине, можно наблюдать последовательные стадии становления ядерных структур. Последние появляются в виде единичных, мелких зерен, которые затем увеличиваются в числе и объеме. В конце концов осаждаются полностью все нуклеопротеиды. Легче поддаются воздействию округлые, менее плотные ядра. В компактных же ядрах структуры возникают с большим трудом и для завершения процесса отщепивания здесь требуется больший промежуток времени. Изменения, происходящие под влиянием испытанных агентов, не ограничиваются только ядром, но захватывают также и цитоплазму. В ней выявляется резко окрашивающееся тигроидное вещество, обычно не обнаруживаемое в контрольном материале. Тельца Ниссля диспергируются медленнее, чем ядерные структуры. В опытах на обратимость при наступлении полной гомогенизации ядер тигроид или следы его могут еще сохраняться.

Очень отчетливо лабильность ядерных структур выявляется в клетках-сателлитах и соединительной ткани, в которых при действии раздражителей структуризация нередко наступает раньше и протекает полнее, чем в ядрах нейронов. Под влиянием специфического раздражителя изменений в клетках-сателлитах отметить не удалось. Не отмечено также и повышение четкости видимости нейрофибрилл.

Таким образом, и на примере ганглиозных клеток, бедных тимонуклеиновой кислотой, можно констатировать динамичность строения ядра, обратимое новообразование ядерных структур при действии различных раздражителей. В норме ядро представляется микроскопически гомогенным, обычные фиксаторы приводят клетку в состояние максимального и необратимого раздражения. То обстоятельство, что нервные клетки не обладают способностью к делению, не может изменить существа приведенных данных.

Ленинградский государственный
университет

Поступило
7 V 1948

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ П. М. Макаров, ДАН, 47, 137 (1945). ² П. М. Макаров, ДАН, 54, 69 (1946). ³ П. М. Макаров, Арх. анат., гист. и эмбр., 19, 5 (1938). ⁴ Б. Кедровский, Биол. журн., 4, 825 (1935). ⁵ Д. Насонов и В. Александров, Реакция живого вещества на внешние воздействия, изд. АН СССР, 1940. ⁶ С. Степанова и Е. Крохина, Арх. биол. наук, 61, 107 (1941). ⁷ Н. Гиден, Acta physiol. Scand., 6, suppl. 17 (1943).