

М. Е. СТРУВЕ

**ГИСТОХИМИЯ АРГИНИНА И ГИСТИДИНА В РАЗВИВАЮЩИХСЯ
И СФОРМИРОВАННЫХ МОТОРНЫХ КЛЕТКАХ СПИННОГО
МОЗГА И ПИРАМИДНЫХ КЛЕТКАХ КОРЫ
ГОЛОВНОГО МОЗГА**

(Представлено академиком А. И. Абрикосовым 25 V 1953)

Гистохимия центральной нервной системы остается далеко еще не изученной, хотя в последнее время появились весьма детальные гистохимические исследования в отношении, например, гликогена (1), распределения рибонуклеиновой кислоты, а также химического анализа тигроида. Это положение справедливо и в отношении моторных клеток спинного мозга и пирамидных клеток головного мозга.

Целью данной работы было цитохимическое исследование содержания и распределения аминокислот — аргинина и гистидина — в моторных клетках спинного мозга и пирамидных клеток коры головного мозга у взрослого кролика, крысы и мыши, а также анализ изменений, которые происходят в тех же клетках у эмбриона кролика. Для выявления аргинина мы пользовались микрохимической реакцией Серра (2), а для выявления гистидина — диазореакцией (3).

Материалом для исследования служили: 1) грудной и поясничный отделы спинного мозга эмбрионов кролика в возрасте 13, 15, 19, 23, 28—30 дней и те же отделы спинного мозга взрослого кролика, крысы и мыши; 2) различные участки коры головного мозга этих же животных и кора головного мозга эмбриона кролика на тех же стадиях развития. Для выявления аргинина изготовлялись срезы на замораживающем микротоме толщиной в 7,5 μ . Для выявления гистидина изготовлялись более тонкие парафиновые срезы в 5—6 μ .

Наблюдения показывают, что плазма моторных клеток спинного мозга взрослых животных дает интенсивные цветные реакции на аргинин и гистидин, в то время как кариоплазма окрашивается менее интенсивно. Ядрышки и белковые зернышки ядра * дают еще более интенсивные реакции, чем цито- и кариоплазма. При окраске моторных клеток по Нисслю в них выявляются характерные глыбки тигроида. Гистохимический анализ составных частей тигроида показывает, что они содержат относительно большое количество гистидина, в то время как аргинина в них лишь несколько больше, чем в окружающей цитоплазме. Отростки моторных клеток (дендриты и нейриты), так же как и плазма, богаты гистидином и, в отличие от плазмы тела клеток, не содержат определенных данным методом количеств аргинина. В соответствии с этим можно видеть, что и белое вещество спинного мозга богато гистидином и лишено определи-

* В ядре встречаются, помимо зерен хроматина, зерна белковой природы, лишенные нуклеиновых кислот.

мых количеств аргинина. Серое вещество, за исключением моторных клеток, бедно гистидином и содержит лишь следы аргинина. Среди вышеописанных моторных клеток изредка встречаются такие же по величине и форме клетки, которые дают значительно более слабые реакции на аргинин и гистидин. Цитоплазма, белковые зернышки, кариоплазма таких клеток окрашиваются слабо в один тон, а ядрышки и тигроид дают более интенсивное окрашивание.

Наблюдения над аргинином и гистидином в формирующихся моторных клетках спинного мозга эмбриона различного возраста (13, 15, 19, 23, 28—30 дней) показали различия в содержании этих аминокислот в различных компонентах клеток, как на разных стадиях развития, так и по сравнению с соответствующими частями моторных клеток взрослых животных.

В спинном мозгу 13-дневного эмбриона хорошо заметна разница между серым и белым веществом, которое окаймляет его в виде узкой полоски. Белое вещество не содержит выявляемых количеств аргинина и дает слабую реакцию на гистидин. В сером веществе на границе с белым, в области будущих передних рогов, лежат довольно большие группы веретеновидных, частью угловатых и мультиполярных клеток, отличающихся более крупными размерами как своего тела, так и ядра. Клетки лежат близко друг к другу, их границы хорошо видны. Различаются клетки двух видов: 1) Формирующиеся моторные клетки — угловатые, иногда несколько веретеновидные, мультиполярные, с крупными округлыми или овальными ядрами, светлоокрашивающимися при наших реакциях. Цитоплазма, белковые зернышки, чрезвычайно мелкие, равномерно разбросанные по ядру, дают слабое окрашивание на аргинин и гистидин, при этом ядрышки в количестве 1—2 окрашиваются несколько интенсивнее. В плазме обнаружены в небольшом количестве мелкие зернышки и частицы тигроида, которые окрашиваются так же, как ядрышки на препаратах, обработанных на гистидин, и не различаются от цитоплазмы при обработке срезов на аргинин. Можно полагать, что частицы тигроида содержат так же мало аргинина, как и плазма, и поэтому не выделяются на ее фоне. 2) Угловатые, веретеновидные клетки, по величине несколько более крупные, чем нейробласты, с овальными, иногда округлыми, диффузно и интенсивно красящимися ядрами; некоторые из них окрашиваются менее интенсивно и сквозь кариоплазму просвечивают ядрышки и мелкие белковые зернышки. В слабо окрашенной цитоплазме обнаружены частицы тигроида. Эти клетки, очевидно, представляют одну из переходных стадий образования моторных клеток из нейробластов.

У 15-дневного эмбриона формирующиеся моторные клетки лежат большими группами довольно близко друг к другу и несколько увеличиваются в размерах. Кариоплазма их также бедна как аргинином, так и гистидином. Ядрышки и белковые зернышки незначительно увеличиваются в размерах и дают, так же как и цитоплазма клеток, несколько более интенсивное окрашивание. Формирующийся тигроид дает положительную реакцию на гистидин, но аргинин в нем гистохимически не выявляется. На последующих стадиях развития эмбриона (19, 23, 28—30 дней) можно наблюдать дальнейшие изменения в морфологии формирующихся моторных клеток и их компонентах: 1) клетки, их ядра, ядрышки увеличиваются в размерах, а форма клеток становится типичной для мультиполярных моторных клеток; 2) количество глыбок тигроида, их размеры увеличиваются; 3) моторные клетки отдаляются друг от друга и на поздней стадии развития эмбриона лежат группами из 2—3 клеток. Одновременно происходят изменения в содержании аргинина и гистидина в цитоплазме, тигроиде, белковых зернышках ядра и ядрышках.

Можно было установить: 1) Постепенное усиление интенсивности наших реакций в цитоплазме клеток, ядрышках, белковых зернышках ядра, при относительно слабой реакции в кариоплазме. 2) Постепенное

усиление интенсивности реакции на гистидин в отростках и глыбках тигроида; у 23-дневного эмбриона он выявляется в крупных глыбках при обработке срезов на аргинин, а на поздней стадии развития аргинин виден в тигроиде почти во всех клетках. 3) Постепенное уменьшение интенсивности реакции на гистидин в кариоплазме нейробластов серого вещества; ядра как бы просветляются и в них становятся различимыми белковые зернышки и ядрышки. Аналогичные изменения имеют место и в отношении аргинина, но выражены менее четко. 4) Содержание аргинина и гистидина в цитоплазме, белковых зернышках ядра, ядрышках и тигроиде моторных клеток в поздних стадиях развития эмбрионов приближается к содержанию и распределению этих аминокислот в тех же компонентах моторных клеток у взрослого животного.

Следующим объектом нашего исследования были пирамидные клетки коры головного мозга. При этом можно было установить, что пирамидные клетки различных слоев и участков не отличаются друг от друга по реакции на гистидин и аргинин. Однако в процессе онтогенеза коры происходит ряд существенных гистохимических изменений в накоплении и распределении аргинина и гистидина.

При реакции на аргинин и гистидин в коре головного мозга взрослых животных были обнаружены пирамидные клетки (большие, средние, малые) двух типов. Одни из них дают интенсивные реакции в цитоплазме, еще более интенсивные в белковых зернах ядра и особенно в ядрышках и несколько менее интенсивные в кариоплазме. Глыбки тигроида выявляются в них лишь на препаратах, обработанных на гистидин. Реакция на аргинин показывает, что количество аргинина в тигроиде и цитоплазме приблизительно одинаковое, благодаря чему глыбки тигроида не выделяются на ее фоне. Пирамидные клетки второго типа дают очень слабые реакции на аргинин и гистидин в цито- и кариоплазме, белковых зернах ядра и незначительно более интенсивные реакции в ядрышках. Глыбки тигроида дают также очень слабую реакцию на гистидин и не выделяются от цитоплазмы на препаратах, обработанных на аргинин. Отростки этих клеток дают слабую реакцию на гистидин и лишены определенных количеств аргинина. Промежуточное вещество коры и глиальные клетки дают слабую реакцию на гистидин и содержат лишь следы аргинина.

Из литературы известно, что корковая пластинка у эмбриона кролика обособляется на 12-й день развития (4). У 13-дневного эмбриона корковая пластинка состоит из нескольких рядов клеток. После обработки препаратов на аргинин и гистидин четко выявляется веретеновидная форма клеток корковой пластинки и клеток материнского слоя мозгового пузыря. Эти клетки, так же как и клетки межуточного и верхнего слоев мозгового пузыря, дают интенсивные и диффузные реакции на указанные аминокислоты. Промежуточное вещество верхнего и межуточного слоев дают слабые реакции на обе аминокислоты. На последующих стадиях развития эмбриона наблюдается дальнейший рост коры в ширину за счет клеток, мигрирующих из материнского слоя, в котором на ранних стадиях развития отмечается большое количество митозов и амитозов, разделение коры на 20-й день развития на 2 этажа и на 25-й день развития — на 6 слоев (4). Начиная с 19-го дня развития эмбриона постепенно исчезает диффузная и интенсивная окраска ядер после реакций на аргинин и гистидин, и на поздней стадии развития в них становятся хорошо различимыми белковые зернышки ядра и ядрышки на фоне светлой кариоплазмы, постепенно исчезает интенсивная окраска промежуточного вещества корковой пластинки и материнского слоя после наших реакций; у поздних эмбрионов оно дает слабое окрашивание, сравниваясь по интенсивности окраски с промежуточным веществом верхнего и межуточного слоев. В корковой пластинке 13-дневного эмбриона найдены единичные формирующиеся пирамидные клетки небольшой величины с верхним и

боковыми дендритами и, нередко, нейритом, округлыми или овальными ядрами, содержащими мельчайшие белковые зернышки, равномерно распределяющиеся по ядру, и 1—2 ядрышка.

Кариоплазма и цитоплазма дают чрезвычайно слабые реакции на аргинин и гистидин, белковые зернышки и ядрышки — незначительно более интенсивные реакции. У 15-дневного эмбриона формирующиеся пирамидные клетки в небольшом количестве найдены в корковой пластинке в материнском слое и единичные — в межуточном слое. Кариоплазма бедна аргинином и гистидином. Цитоплазма, белковые зернышки ядра и ядрышки дают несколько более интенсивные реакции на обе аминокислоты.

На последующих стадиях развития эмбриона (19, 23, 28—30 дней) количество формирующихся пирамидных клеток возрастает, но у 19- и 23-дневных эмбрионов продолжает оставаться небольшим. У поздних эмбрионов большинство клеток III, IV и V слоев представлено пирамидными клетками. Наиболее крупные из них встречаются в V слое. На этих стадиях развития эмбриона наблюдается дальнейшее усиление интенсивности наших реакций в цитоплазме, белковых зернышках ядра и ядрышках пирамидных клеток при относительно слабых реакциях в кариоплазме. Тигроид выявляется в формирующихся пирамидных клетках при окраске по Нисслию у эмбрионов на 19-й день развития, однако гистидин до 23-го дня распределен диффузно по всей цитоплазме, а с 23-го дня более интенсивно выявляется в глыбках тигроида. Что же касается аргинина, то он, повидимому, на этих стадиях развития эмбриона распределен диффузно. Это указывает на то, что в плазме и тигроиде имеется примерно одинаковое количество аргинина.

Наши наблюдения над аргинином и гистидином в моторных клетках спинного мозга и пирамидных клетках коры головного мозга при развитии эмбриона кролика показывают, что с момента начала формирования моторных и пирамидных клеток происходит: 1) постепенное накопление белков, содержащих аргинин и гистидин как в цитоплазме, так и в белковых зернышках ядра и ядрышках, при сравнительно низком их содержании в кариоплазме; 2) постепенное накопление гистидина и, повидимому, аргинина в тигроиде; 3) постепенное уменьшение содержания аргинина и гистидина в кариоплазме ядер клеток серого вещества спинного мозга и ядрах клеток и промежуточном веществе коры головного мозга.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

Поступило
7 V 1953

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. Л. Шабадаш, Гистохимия гликогена нормальной нервной системы, 1949.
² J. A. Serra, Naturwiss., 32, 46 (1944). ³ Г. И. Роскин, Микроскопическая техника, 1951. ⁴ С. А. Троицкая, Арх. анат., гист. и эмбр., 30, в.1 (1953).