Доклады Академии наук СССР
1955. Том 103, № 1

ГИСТОЛОГИЯ

В. В. ПОРТУГАЛОВ и В. А. ЯКОВЛЕВ

О РАСПРЕДЕЛЕНИИ СУКЦИНОДЕГИДРАЗЫ В ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ И ДВИГАТЕЛЬНЫХ НЕРВНЫХ ОКОНЧАНИЯХ

(Представлено академиком Л. А. Орбели 25 II 1955)

Физиологические процессы, протекающие в нервной системе, самым непосредственным образом связаны с реакциями биологического окисления. К таким процессам могут быть отнесены: проведение возбуждения по нервному стволу, передача нервных импульсов в интернейрональных синапсах, превращение стимула в нервный импульс и т. п. Вместе с тем только сейчас начинают возникать представления о конкретных механизмах связи окислительно-восстановительных процессов с функциями нервной системы. В создании таких представлений, наряду с физиологическими и биохимическими методами, существенную роль должны сыграть гистохимические методы изучения распределения окислительных ферментов в структурах нервной ткани и иннервируемых образований.

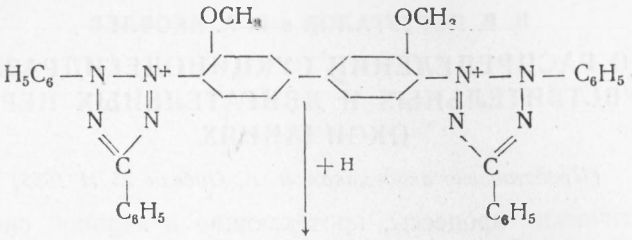
В связи с тем, что среди окислительных ферментов наиболее существенную роль играют биокатализаторы реакций, протекающих по принципу дегидрирования биосубстратов, мы предприняли гистохимическое изучение активности одного из представителей дегидраз, а именно сукцинодегидразы, в некоторых структурах периферической нервной системы: в чувствительных и двигательных нервных волокнах, инкапсулированных рецепторных аппаратах и нервномышечных синапсах поперечно-полосатых мышц.

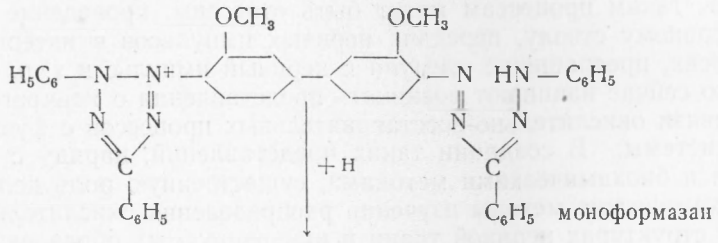
Выявление активности сукцинодегидразы в микроструктурах ткани производилось с использованием реакции ферментативного восстановления одного из производных тетразолия ([1–10]). Этот способ нашел в последние годы довольно широкое распространение в связи с его явным преимуществом перед методом обесцвечивания метиленового синего ([11]).

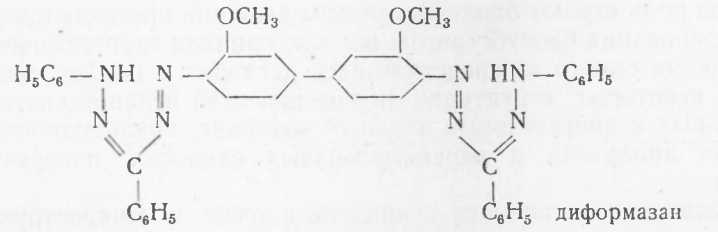
В настоящей работе за основу был принят метод Зелигмана и Рутенбурга ([8]), в который были внесены некоторые технические изменения, оказавшиеся необходимыми для получения тонких длительно сохраняющихся гистологических препаратов. Метод основан на том, что соли тетразолия способны акцептировать атомы водорода, отщепляемые тканевыми дегидразами от имеющихся там или добавляемых извне биосубстратов, причем продукты восстановления солей тетразолия — окрашенные формазаны — локализуются в местах их образования ввиду крайне малой растворимости в водных средах. Таким образом, структурные элементы ткани, обладающие дегидразной активностью, при воздействии на них бесцветных водных растворов солей тетразолия окрашиваются. В качестве акцептора водорода в нашей работе был использован 3,3[1]-дианизол-бис-4,4[1](3,5-дифенил)тетразолий хлорид, известный в иностранной литературе как синий тетразолий (BT). Это соединение при действии дегидраз превращается либо в красный моноформазан, либо в синий диформазан.

Методика. Работа проведена на тканях кошек. Животных умерщвляли эфирно-хлороформным наркозом. Кусочки тканей, не более 1,5—

2,0 мм толщиной, взятые сразу же после смерти животного, помещали в 0,1% раствор хлорида тетразолия в 0,1 *М* фосфатном буфере pH 7,8 с добавлением сукцината натрия в концентрации 0,1 *М*. После создания анаэробных условий ткани выдерживали в растворе субстрата при 38° в течение 2—8 час. Далее кусочки ткани извлекали из раствора и после ополаскивания в дестиллированной воде помещали для прекращения ферментной реакции и фиксирования в 10% раствор нейтрального формалина на ночь. Затем после промывки в нескольких сменах дестиллированной







воды кусочки при 38° проводили через 12 и 24% растворы желатина на тимоловой воде (по 4 часа в каждом) и заливали в 24% желатин. После уплотнения из блоков тканей на замораживающем микротоме изготовляли срезы толщиной от 10 до 50 μ и заключали в глицерин-желатин. Аналогичной обработке, исключая проведение через желатин, подвергали срезы толщиной 40—60 μ, приготовленные из свежей ткани.

На приготовленных таким образом срезах микроструктуры тканей, обладающие сукцинодегидразной активностью, оказываются окрашенными в различные тона от светлокрасного и даже розоватого до фиолетово-синего, в зависимости от активности фермента. Яркость окраски, т. е. количество образовавшегося формазана, в значительной мере зависит от срока инкубации ткани в растворе тетразолия.

Результаты исследования. По ходу чувствительных нервных волокон сукцинодегидраза выявляется преимущественно в оболочках, причем на препарате не все волокна имеют одинаковую ферментную активность, что выражается в различной степени и тоне окраски. В оболочке нервного волокна дегидраза распределена равномерно, и на препарате, исключая бесцветные перехваты Ранвье, оболочка представляется равномерно окрашенной в розоватый цвет лентой. Важно отметить, что осевой цилиндр почти не содержит сукцинодегидразы и бывает либо бесцветен, либо окрашен в слабо розовый цвет. В том, что отсутствие дегид-

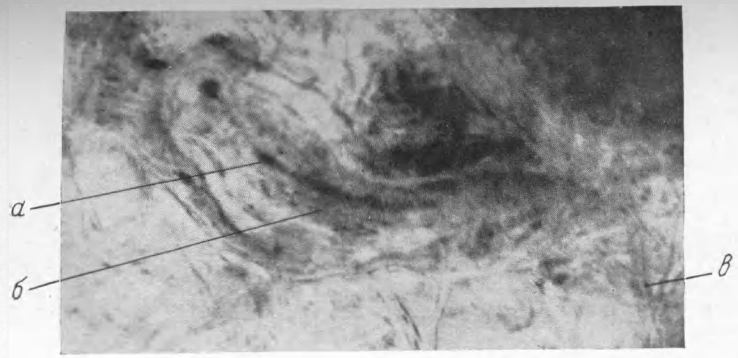


Рис. 1. Распределение сукцинодегидразы в инкапсулированном рецепторном аппарате из кожи носа кошки. *а* — подходящее к рецептору нервное волокно; *б* — осевой цилиндр; *в* — внутренняя колба рецептора

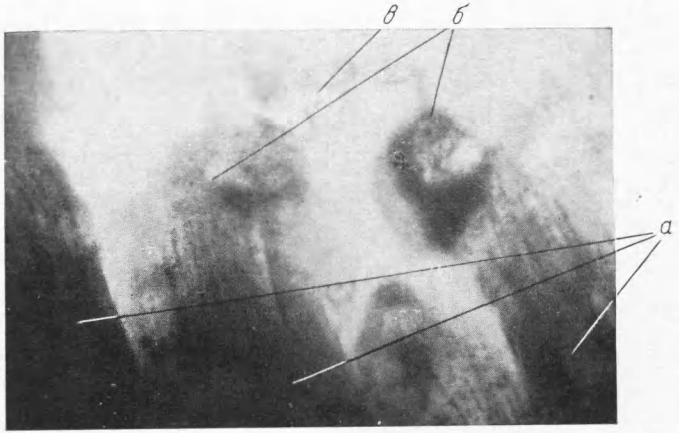


Рис. 3. Распределение сукцинодегидразы в мышце языка кошки. *а* — мышечное волокно; *б* — моторная бляшка; *в* — нервное волокно

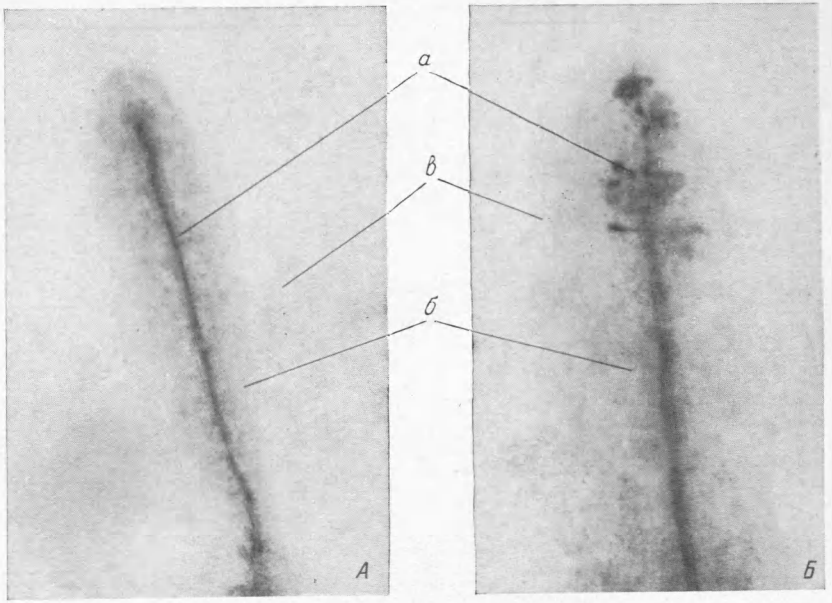


Рис. 2. Распределение сукцинодегидразы в пластинчатых тельцах брыжейки кошки. Рецепторы с простым (*А*) и сложно-ветвящимся (*Б*) аксоном, *а* — осевой цилиндр; *б* — внутренняя колба; *в* — наружная капсула

разы в осевом цилиндре не связано с проницаемостью миэлиновой оболочки, убеждают опыты с инкубированием тканевых срезов. На таких препаратах хорошо видно, что в местах поперечного рассечения нервного волокна окраска обнаруживается только в оболочке, несмотря на то, что в этом случае осевой цилиндр входит в прямое соприкосновение с раствором сукцината и тетразолия.

Полученные результаты говорят о том, что окислительно-восстановительные реакции, т. е. процессы энергетического обмена, протекают в миэлиновой оболочке значительно более интенсивно, чем в аксоне. Это, конечно, не значит, что выполнение аксоном основной физиологической функции — проведение возбуждения — не связано прямо или косвенно с окислительными процессами. Можно думать, что интенсивно протекающие в мякотной оболочке окислительно-восстановительные процессы являются непосредственным источником энергии, затрачиваемой на проведение нервных импульсов. Тот факт, что в нервном волокне структуры, в которых происходят реакции энергетического обмена, и структуры, непосредственно проводящие возбуждение, хотя и соприкасаются, тесно прилегая друг к другу, но остаются с морфологической точки зрения существующими раздельно, говорит о своеобразии связи между биохимическими процессами и функцией нервных проводников. В частности, это свидетельствует в пользу представления, что в проведении возбуждения важнейшую роль играет слой аксона, граничащий с миэлиновой оболочкой, функция которой, вопреки встречающимся представлениям, не ограничивается ролью «изолирующего» материала.

Своеобразие связи между функциональными свойствами структур нервной ткани и гистохимической характеристикой распределения в них сукцинодегидразы со всей очевидностью выступает при изучении области концевых разветвлений чувствительных нервов. В зоне рецептора, как только нервное волокно теряет в оболочке миэлин, дегидразная активность шванновских структур, сопровождающих аксон, резко возрастает — их окраска из розовой становится красно-фиолетовой или синей. Обычно на фоне шванновского симпласта внутренней колбы инкапсулированного рецептора осевой цилиндр резко выделяется интенсивностью своей окраски, приобретая здесь иссиня-черный цвет. В рецепторах со сложным ветвлением аксона дегидраза обнаруживается и в боковых его ветвях. Обращает на себя внимание тот факт, что не все рецепторные аппараты даже одного типа обладают одинаковой активностью.

Подобная картина распределения активности сукцинодегидразы наблюдалась нами в рецепторных аппаратах кожи (рис. 1), надкостницы, слизистой губ и носа и брыжейки (рис. 2 *А, Б*). Полученные материалы позволяют высказать предположение о возможном п р я м о м участии ферментативных процессов дегидрирования в формировании нервного импульса в рецепторе при воздействии на него стимулов.

Распределение сукцинодегидразы по ходу моторных нервных волокон мало отличается от того, что мы наблюдаем в чувствительных проводниках. Ферментноактивными и здесь являются миэлиновые оболочки, но не осевой цилиндр, однако активность дегидразы в моторных волокнах в целом несколько меньше, чем в чувствительных. При образовании моторной бляшки утрата оболочкой нервного волокна миэлина сопровождается резким изменением активности — шванновский симпласт моторной бляшки бывает интенсивно окрашен в сине-фиолетовый цвет. Следует отметить, что сукцинодегидразная активность моторной бляшки, как правило, не отличается от активности фермента в самих мышечных волокнах. Исключение здесь составляют ядра подошвы моторной бляшки, которые на препаратах оказываются не окрашенными, т. е. сукцинодегидразы не содержат или содержат ее в незначительном количестве (рис. 3). Отсутствие выявляемой гистохимически активности сукцинодегидразы в ядрах клеток различных тканей является общим правилом и, повидимому, связано

с тем, что потребность клеток в энергии покрывается за счет окислительных процессов, протекающих в цитоплазме.

Результаты изучения распределения сукцинодегидразы в поперечнополосатых мышцах и нервно-мышечных синапсах показывают отсутствие приуроченности локализации дегидразы только к структурным элементам, ответственным за передачу возбуждения с нерва на мышцу. Это дает основание высказать предположение, что сукцинодегидраза в структурах моторной бляшки выполняет общую функцию обеспечения энергетических затрат и, вероятно, синтеза специфических веществ, необходимых для осуществления функций (в частности, медиаторов нервного возбуждения), но прямого участия в передаче возбуждения не принимает.

Институт мозга
Академии медицинских наук СССР

Поступило
4 II 1955

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

[1] M. Black, F. Speer, Proc. Exp. Biol. Med., 82, 289 (1953). [2] M. Black, B. Zweifach, F. Speer, Am. J. Clin. Pathol., 23, 332 (1952). [3] C. Francis, J. Physiol. (London), 119, 38 (1953). [4] J. Gotdard, A. Seligman, Cancer, 6, 385 (1953). [5] K. Neumann, Klin. Wochenschr., 30, 605 (1952). [6] J. Parker, Science, 118, 77 (1953). [7] G. Rogers, Quart. J. Microscop. Sci., 94, 253 (1953). [8] A. Seligman, A. Rutenburg, Science, 113, 317 (1951). [9] E. Shelton, W. Schneider, Anat. Record, 112, 61 (1951). [10] F. Smith, Science, 113, 751 (1951). [11] В. Е. Семенов, Zs. f. Zellforsch. u. mikr. Anat., 22, 305 (1934—1935).