УДК 591.482.4.001.5:636.2

ОСОБЕННОСТИ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ И ДИНАМИКА НЕКОТОРЫХ ГИСТОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СПИННОМОЗГОВЫХ УЗЛОВ В ПРЕНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Шакирова Г.Р.

ФГБОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина», Москва, e-mail:shakirova_galiya@list.ru

Объектом настоящего исследования служили предплоды и плоды бестужевской породы крупного рогатого скота. Возраст объектов исследования определяли по линейным и весовым показателям и степени развития волосяного покрова. Изучены спинномозговые узлы поясничного отдела от девяти возрастных групп пренатального онтогенеза крупного рогатого скота гистохимическими, ультраструктурными и светооптическими методами. В раннем эмбриогенезе спинномозговые узлы крупного рогатого скота построены из клеток находящихся на различном уровне цитодифференцировки: ганглиобластов, нейробластов, глиобластов. Нейробласты отличаются формой, величиной, степенью дифференцировки цитоскелета и аппарата синтеза белка. В предплодный период нейробласты количественно преобладают и заметно опережают по темпам развития клетки глиального ряда. К рождению телят достигают достаточно высокой степени дифференцировки крупные и средние нейроны, имеющие высокий уровень нуклеинового обмена, окислительного фосфориллирования и сложные нейрон-глиальные взаимоотношения.

Ключевые слова: спинномозговой узел, ганглиобласт, нейробласт, нейрон, глиоцит, нуклеиновая кислота, сукцинатдегидрогиназа, эмбриогенез, ультраструктура, крупный рогатый скот

FEATURES OF THE ULTRASRUCTURE AND DYNAMICS OF SOME HISTOCHEMICAL INDICATORS OF DORSAL ROOT GANGLIA OF CATTLE PRENATAL ONTOGENESIS

Shakirova G.R.

Moscow state Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology by K.I. Skryabin, Moscow, e-mail:shakirova_galiya@list.ru

The object of the present study were prefetal and fetal bestuzhevskoj breed of cattle. Age objects of study determined by linear and weight indices and degree of development of the hairline. Studied lumbar dorsal root ganglia from nine age groups prenatal ontogenesis cattle with histochemical, ultrastructural and light microscopic methods. In early embryogenesis dorsal root ganglia are built from cells at different stages of cytodifferentiation: ganglioblasts, neuroblasts, glioblasts. Neuroblasts differ by shape, size, degree of differentiation protein synthesis apparatus and neurofibrils. In prefetal period neuroblasts quantitatively dominated and substantially ahead of the pace of development of glial cells. By the birth of calves reach of large and medium neurons a sufficiently high degree of differentiation with a high level of nucleic acid metabolism, oxidative phosphorylation and complex neuron – glial relationships.

Keywords: spinal unit, ganglioblast, neuroblasts, neuron, glia cell, nucleic acid, succinate dehydrogenase, embryogenesis, ultrastructure, cattle

Несмотря на достижения отечественной и зарубежной морфологии в изучении нервной системы многие вопросы становления афферентного звена рефлекторной дуги до настоящего времени остаются нерешенными. Окончательно не разрешены вопросы о критических периодах при дифференцировке чувствительного нейрона и развития в спинномозговых узлах крупного рогатого скота нейрон-глиальных взаимоотношений. В наши дни, когда в животноводстве определяющее значение имеет крупный рогатый скот, отсутствие достаточных сведений о развитии сенсорных ганглиев в пренатальном онтогенезе этого вида животных настоятельно требует проведения специальных исследований по восполнению существующего пробела.

Материалы и методы исследования

Объектом настоящего исследования служили предплоды и плоды бестужевской породы крупного рогатого скота. Нами были изучены спинномозговые узлы (СМУ) поясничного отдела от девяти возрастных групп пренатального онтогенеза крупного рогатого скота. Возраст объектов исследования определяли по линейным и весовым показателям и степени развития волосяного покрова [Шмидт Г.А.,1964]. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином – эозином, тионином по Нисслю, импрегнировали азотно-кислым серебром в модификации В.В.Куприянова [1982]. Для определения количества нуклеиновых кислот в нейронах и глиоцитах использовали метод Эйнарсона [Кононский А.И., 1976]. Толщину срезов определяли в 5-7 точках среза на микроскопе ОРИМ-1. На установке МИФ-1к проводили количественное исследование нуклеиновых кислот в больших, средних, мелких нейронах и глиоцитах [Гореликов П.Л., 1975].

Для изучения особенностей окислительно-восстановительных процессов в СМУ определяли сукцинатдегидрогеназу (СДГ). Физиологическая роль СДГ как члена трикарбонового цикла заключается в ее участии в конечном окислении углеродов, транспорте электронов в окислительном фосфориллировании в митохондриях, а также в аэробном метабо-

лизме клетки [Lehninger A.L.,1967]. Активность СДГ определяли по методу Нахласа с тетронитро – СТ [Кононский А.И.,1976] в СМУ у 3, 4, 5, 7, 9 месячных плодов крупного рогатого скота.

Для исследования ультраструктуры материал фиксировали в 2,5%-ном растворе глутаральдегида на фосфатном буфере Миллонига (РН-7,4) – 3 часа, дофиксировали в 1%-ном растворе четырехокиси осмия на том же буфере – 1,5 часа при 0 С. Ультратонкие срезы готовили на ультратоме LKB – 3, контрастировали цитратом свинца и изучали с помощью электронного микроскопа JEM 100 S (Япония).

Результаты исследования и их обсуждение

Нами установлено, что в конце раннепредплодного этапа онтогенеза зачатки СМУ в поясничной области крупного рогатого скота анатомически обособлены. Зачатки СМУ окружены 1-2 слоями рыхло расположенными клетками мезенхимы. Не все клетки завершили миграцию из ганглиозной пластинки по направлению к закладкам вегетативных ганглиев, поэтому корешки ганглия довольно широкие. Наблюдается связь закладок СМУ с мозговыми оболочками и незначительное увеличение размеров поясничных узлов в каудальном направлении. Известно, что поясничные отделы спинного мозга, и спинномозговые узлы являются местами локализации, конденсации и количественного увеличения соматических нервных элементов, которые лучше развиты у животных с высоко специализированными конечностями (у лошади, верблюда, крупного рогатого скота, собаки) [Попкова Г.А.,1968]. В этот этап онтогенеза зачатки СМУ крупного рогатого скота построены из клеток находящихся на различном уровне цитодифференцировки: ганглиобластов, нейробластов, глиобластов, кровеносных капилляров и малодифференцированных фибробластов. Для ганглиобластов типично высокое ядерно-цитоплазменное отношение, электронноплотное ядро с 1-2 ядрышками с плохо выраженным их гранулярным компонентом. В небольшом объеме цитоплазмы содержатся рибосомы, полисомы и митохондрии.

В нейробластах СМУ крупного рогатого скота в относительно крупном ядре снижается число глыбок гетерохроматина, в ядрышке хорошо разичимы гранулярный и фибриллярный компоненты, в кариоплазме увеличивается число РНП – гранул. Часто кариолемма почти не различима из-за скопления большого количества гранулярных частиц в этой области. Обнаруживаются открытые ядерные поры, через которые происходит элиминация ядрышкового материала в цитоплазму. В ряде работ отмечается, что возникновение нисслевских телец в ходе нейроонтогенеза, играет ведущую роль в дифференцировке тигроидной субстанции – органеллы, осуществляющей синтез белков нейрона [Корочкин Л.И., Оленев С.Н.,1966, Hyden H., 1943], а форма, величина и количество ядрышек в нейронах варьирует в зависимости от активности клетки в синтезе РНК [Шакирова Г.Р.,1988]. Известно, что фаза нейробласта характеризуется образованием нейрофибрилл и нервных отростков [Кнорре А.Г., Суворова Л.В., 1959]. Удлинение нервного отростка происходит в результате двигательной активности конуса роста и псевдоподий, пребывающих в постоянном движении вытягивания и втягивания.

По нашим наблюдениям, начиная с предплодного периода, нейробласты в СМУ отличаются формой, величиной, степенью дифференцировки цитоскелета и аппарата синтеза белка. На ранних стадиях эмбриогенеза цитоплазма нейробластов содержит преимущественно полисомы. Позднее образуется гранулярный эндоплазматический ретикулум. С помощью ультраструктурного анализа удалось установить дифференцировку ганглиобластов в два морфологически различающиеся типы клеток: нейробласты и глиобласты. В предплодный период нейробласты количественно преобладают и заметно опережают по темпам цитодифференцировки клетки глиального ряда. Кроме того, нами выделены несколько разновидностей нейробластов, которые отличаются степенью развития белоксинтезирующего аппарата, что обусловливают их различную скорость роста. Уровень развития ультраструктуры отдельных клеток нейрального ряда подготавливает их к переходу на качественно новую ступень специализации – дифференцирующийся нейрон.

Раннеплодный этап (2- 5 месяцев) онтогенеза крупного рогатого скота отличается особой интенсивностью в развитии структур СМУ и преобразованием части нейробластов в дифференцирующиеся нейроны. Характерным признаком этой стадии являются существенное увеличение объема цитоплазмы, появление глыбок тигроида и установление контактов с глиальными клетками. Как в ганглиях крупного рогатого скота, так и в ганглиях других животных на ранних этапах морфогенеза наблюдается асинхронность дифференцировки нейронов в одном и том же ганглии. Клетки, находящиеся в вентро-латеральных областях зачатков спинномозговых узлов растут и дифференцируются быстрее [Буйкис И.М., 1962; Pannese E., 1966]. Авторы объясняют это последовательным характером включения нейронов в функциональную деятель-

ность. В дифференцирующихся нейронах мы наблюдали изменение формы ядра и увеличение площади соприкосновения ядра с цитоплазмой. В нейронах формирование базофильного вещества начинается с перинуклеарной области. Затем глыбки базофильной субстанции появляются на полюсах клетки, захватывают периферическую часть и постепенно заполняют цитоплазму полностью. У более дифференцированных нейронов обнаруживаются дискретные глыбки Ниссля, между которыми определяются пучки нейрофиламентов.

Усложнение морфологической архитектоники непосредственно связано с процессами совершенствования гистохимической организации нейронов. Наши цитофотометрические исследования показали, что в раннеплодном этапе онтогенеза крупного рогатого скота нуклеиновый обмен в средних и мелких нейронах существенно отстает от такового в крупных нейронах. Содержание нуклеиновых кислот на единицу площади в средних нейронах в 5 месяцев соответствует уровню обмена в крупных нейронах в 4 месяца, а в мелких клетках данное количество нуклеиновых кислот определяется в 6 месяцев эмбриогенеза. В позднеплодный этап происходит постепенное выравнивание интенсивности НК обмена в крупных и средних нейронах на единицу площади. Таким образом, с увеличением размеров нейронов происходит нарастание концентрации РНК, тигроидной субстанции и активности СДГ, что согласуется с данными литературы. На ранних этапах пренатального развития курицы, коровы, овцы, активность СДГ находится на низком уровне в спинном мозге и СМУ. Во время плодного периода активность СДГ увеличивается прежде всего в телах нейронов СМУ, передних рогов серого вещества спинного мозга [Буйкис И.М., 1962]. Высокая активность СДГ коррелирует с размерами нервных клеток. Активность фермента увеличивается одновременно с накоплением РНК и белка [Кононский А.И., 1969]. Мы установили, что в СМУ крупного рогатого скота резкое увеличение активности СДГ в нейронах регистрируется в 4 месяца эмбриогенеза, что коррелирует с данными морфометрических и ультраструктурных исследований и, по нашему мнению, представляет критический этап в развитии афферентного звена рефлекторной дуги поясничного отдела этого вида животных. К 5 месяцам эмбриогенеза обнаруживается более половины клеток СМУ со средней активностью фермента, а также увеличивается число клеток с высокой активностью фермента СДГ. К 7 месяцам эмбриогенеза растет число средних нейронов с высоким уровнем активности фермента. Эти данные коррелируют с исследованием динамики нуклеинового обмена в нейронах СМУ поясничного отдела, когда происходит постепенное выравнивание метаболической активности в разных по размеру клетках. К рождению в чувствительных нейронах СМУ регистрируется наиболее высокий уровень интенсивности СДГ. Зерна дифармазана локализуются в перинуклеарной зоне, реже в области аксонного холмика, однако в отдельных нейронах активность фермента понижена на периферии клетки. При ультраструктурном анализе нами были выявлены две популяции митохондрий, различающихся плотностью матрикса и количеством крист. В перинуклеарной зоне нейрона располагались мелкие митохондрии с плотным матриксом и хорошо выраженными кристами. На периферии нейронов обнаруживаются полиморфные митохондрии, часто с просветленным матриксом.

Общим для всех классификаций сенсорных нейронов является подразделение клеток на мелкие, средние и крупные [Александровская О.В., 1984]. В СМУ в эмбриогенезе крупного рогатого скота также обнаруживаются клетки, отличающиеся морфометрическими показателями объема ядра, объема цитоплазмы, ядерно-цитоплазменного отношения. В ганглиях крупного рогатого скота в предплодный, раннеплодный и среднеплодный этапы онтогенеза объем цитоплазмы увеличивается интенсивнее объема ядра, происходит прогрессивное снижение ядерно-цитоплазменного отношения до 7 месяцев во всех разновидностях нейронов. Нами определена ритмичность в росте этих показателей и установлены сроки ускоренного и замедленного роста нейронов в эмбриогенезе крупного рогатого скота. Наиболее значительное увеличение объема ядра и цитоплазмы наблюдается в 3-4 месяца, в 6–7, 8–9 месяцев. Полученные нами данные и их сопоставление с ранее проведенными исследованиями в постнатальном онтогенезе сенсорных узлов крупного рогатого скота [Александровская О.В.,1982,1984] позволили прийти к заключению, что в СМУ поясничного отдела к рождению телят достигают более высокой степени дифференцировки крупные и средние нейроны, что подтверждается высоким уровнем нуклеинового обмена, окислительного фосфориллирования и ультраструктурной организацией нейрон-глиальных взаимоотношений.

Наши цитофометрические исследования содержания нуклеиновых кислот отражают гетерохронию пластического обмена,

которая особенно ярко выражена на ранних этапах онтогенеза и определяет разновременное созревание микро- и ультраструктур нейронов и их отростков. Возможно, это обусловлено особенностями становления функциональных систем этого вида животных. Нейроны в ганглии отличаются аргирофилией, с возрастом происходит ее усиление, особенно в крупных из них.

В среднеплодный этап онтогенеза крупного рогатого скота изменяется поверхность контакта между крупными нейронами и сателлитами, в последующие месяцы в связи с дальнейшим увеличением размеров перикарионов нейрон-глиальные отношения развиваются в средних нейронах, в мелких они выражены слабо. Электронномикроскопический анализ показал утолщение мантийной оболочки и усложнение ультраструктуры сателлитов. Сателлиты по строению ядра, белоксинтезирующего и энергетического аппаратов сильно варьируют.

Заключение. Таким образом, полученные нами данные и их сопоставление с исследованиями сенсорных узлов крупного рогатого скота в постнатальном онтогенезе [О.В.Александровская, 1982, 1984] позволили прийти к заключению, что в спинномозговых узлах поясничной области к рождению телят достигают достаточно высокого уровня дифференцировки крупные и средние нейроны, что подтверждается уровнем нуклеинового обмена, окислительного фосфориллирования и ультраструктурной организацией нейрон-глиальных взаимоотношений.

К моменту рождения у телят лучше всего развиты скелет конечностей (70 % длины во взрослом состоянии) – органов, от функционирования которых в значительной степени зависит выживание организма, особенно в ранние периоды постэмбриональной жизни. С развитием скелета конечностей тесно связано развитие мышц тазовых и грудных конечностей [П.В. Макрушин, 1984] и по нашему мнению, положительно коррелирует с уровнем подготовленности нейрон-глиальных систем спинномозговых узлов крупного рогатого скота.

Список литературы

1. Александровская О.В. Ультратонкое строение спинномозговых ганглиев крупного рогатого скота // Проблемы молекулярной биологии и патологии сельскохозяйственных животных: Сб.научн.тр. –МВА. – 1982. – С.41-43.

2. Александровская О.В. Светооптические и электронно – микроскопические показатели организации спинномозговых ганглиев крупного рогатого скота //Проблемы ветеринарной биологии:Сб. научн.тр. –МВА. - 1984. – С.78-82.

3. Буйкис И.М. Распространение сукцинатдегидрогеназы в микроструктурах спинного мозга и межпозвоночных узлов у эмбрионов и плодов овцы // Труды ин-та экспер. и клин. мед. АН Латв. ССР. – 1962. – Т.29. – С.27-31.

4. Гореликов П.Л. Применение микроскопа ОРИМ-1 для определения толщины парафиновых срезов // Цитология. – 1975. – т.17. – №11. – С.1341-1344.

5. Кнорре А.Г., Суворова Л.В. Основные этапы дифференцировки нейрона //Архив анат., гистол. и эмбриол. – 1959. – т.36. – вып.7. – С.3-18.

6. Кононский А.И. Становление химической архитектоники некоторых нервных клеток свиньи в онтогенезе (эмбриональный период) // Научн. зап. Белоцерковского СХИ, 1969 (1970). -Т.18. – С.141-148.

7. Кононский А.И. Гистохимия. Киев: Вища школа. – 1976. – 264 с.

8. Корочкин Л.И., Оленев С.Н. Механизмы и факторы развития нейронов и межнейронных связей в онтогенезе // Успехи совр. биологии. – 1966. – №1. – вып.4. – С.77-96.

9. Макрушин П.В. Рост, возможности его прогнозирования и регулирования у сельскохозяйственных животных // Лекция для студентов с.-х. вузов. Саратов. Саратовский СХИ. -1984. – 68с.

10. Попкова Г.А. Функциональная характеристика нервных структур спинного мозга сельскохозяйственных и лабораторных животных: Дис. … д-ра вет. наук. – Алма-Ата, 1968.

11. Шакирова Г.Р. Морфофункциональная характеристика спинномозговых узлов в эмбриогенезе крупного рогатого скота // Современные проблемы интенсификации научных исследований в преподавании физиологии человека и животных /Методические рекомендации для слушателей ФПК, преподавателей, научных сотрудников, аспирантов и студентов ветеринарных, зоотехнических и биологических факультетов. – М. – 1988. – С.83-86.

12. Шмидт Г.А. Некоторые вопросы теории периодизации онтогенеза животных // Закономерности индивидуального развития сельскохозяйственных животных. – М.: Наука. – 1964. – С.29-37.

13. Hyden H. Protein metabolism in the nerve cell during growth and function // Acta Physiol. Scand. – 1943. – V.6. Suppl. 17. – P.1-12.

14. Lehninger A.L. Cell organelles: The mitochondrion// In the Neurosciences. G.C. Laurton, T. Melnechuk and F.O. Schmitt eds., N.Y.,Rockefeller Univer. Press. – 1967. – P.91-100.

15. Pannese E. Structures possibly related to the formation of new mitochondria in spinal ganglion neuroblasts// J. Ultrastruct. Res. – 1966. – V.15. – P.57-65.