

Н. С. КОСИЦЫН, Л. Л. БАБАКОВА, М. З. ЧУНАЕВА

**ГИСТОХИМИЧЕСКОЕ И ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ  
ИССЛЕДОВАНИЕ НАЛИЧИЯ И РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛИКОГЕНА  
В СИНАПСАХ РЕТИКУЛЯРНОЙ ФОРМАЦИИ МОЗГОВОГО СТВОЛА**

*(Представлено академиком П. К. Анохиным 5 II 1970)*

В основе всех энергетических затрат животных клеток лежит окисление углеводов. Как правило, энергетический обмен идет за счет окисления глюкозы, которая током крови разносится по всем органам. Когда по каким-нибудь причинам доставка глюкозы через кровь затруднительна, реализуется собственный резерв углеводов, представленный в животных клетках гликогеном. Наличие и распределение гликогена в нервных клетках было подробно изучено А. Л. Шабашом (1). Им же был обнаружен гликоген в синаптических окончаниях вегетативных ганглиев (1). О возможности гистохимического выявления гликогена в синапсах ц.н.с. говорится также в работе Т. Генчева (2). Последнее время появился ряд электронномикроскопических исследований, где показано присутствие гранул гликогена в синаптических бляшках (3-7). Гликогеновая природа электронно-плотных гранул в синаптических бляшках устанавливается по аналогии с подобными гранулами в структурах, где их отношение к гликогену экспериментально доказано (8-10). Имеющиеся в литературе сведения о гликогене в синаптических окончаниях отрывочны и неполны. Все это побудило нас более подробно заняться изучением этого вопроса. Нам кажется, что данные о распределении и синтезе гликогена в нервных окончаниях могут представить интерес для анализа деятельности синапса.

Для гистохимического исследования гликогена использовали ретикулярную формацию мозгового ствола взрослых кошек.

Материал фиксировали в смесях Карнуа и Шабаша. Кусочки мозгового ствола заливали в парафин. Приготавливали срезы толщиной 7 м и обрабатывали их на гликоген по методике Шабаша (1). Контрольные срезы мозга обрабатывали амилазой. Параллельно срезы ретикулярной формации импрегнировали серебром по методу Дейнеки для выявления синаптических бляшек. Объектом электронномикроскопических исследований служила ретикулярная формация ственных черепах (*Testudo horsfieldi*). В качестве фиксатора использовали 2% раствор осмиевой кислоты в фосфатном буфере с добавлением сахарозы. Кусочки мозга заключали в аралдит. Срезы обрабатывали двойной окраской (уранилацетат + цитрат свинца). Препараты фотографировали в электронном микроскопе JEM-7.

Полученные нами данные световой гистохимии показали, что в мотонейронах спинного мозга содержится много гликогена, в то время как в ретикулярных нейронах он отсутствует. Более того, нами обнаружено отсутствие в ретикулярных нейронах фосфоорилазы, что указывает на потерю этими нервными клетками возможности синтезировать гликоген. Однако на поверхности ретикулярных нейронов, обработанных методом Шабаша, мы часто видели скопления гликогена, которые отсутствовали на контрольных срезах, предварительно обработанных амилазой; по форме и плотности распределения гликогеновые образования очень напоминали синаптические окончания, полученные методом Дейнеки (рис. 1). Так как предварительно было установлено, что сами ретикулярные нейроны не способны синтезировать полисахарид, гликогеновые образования на поверхности клетки мы приписываем синапсам.



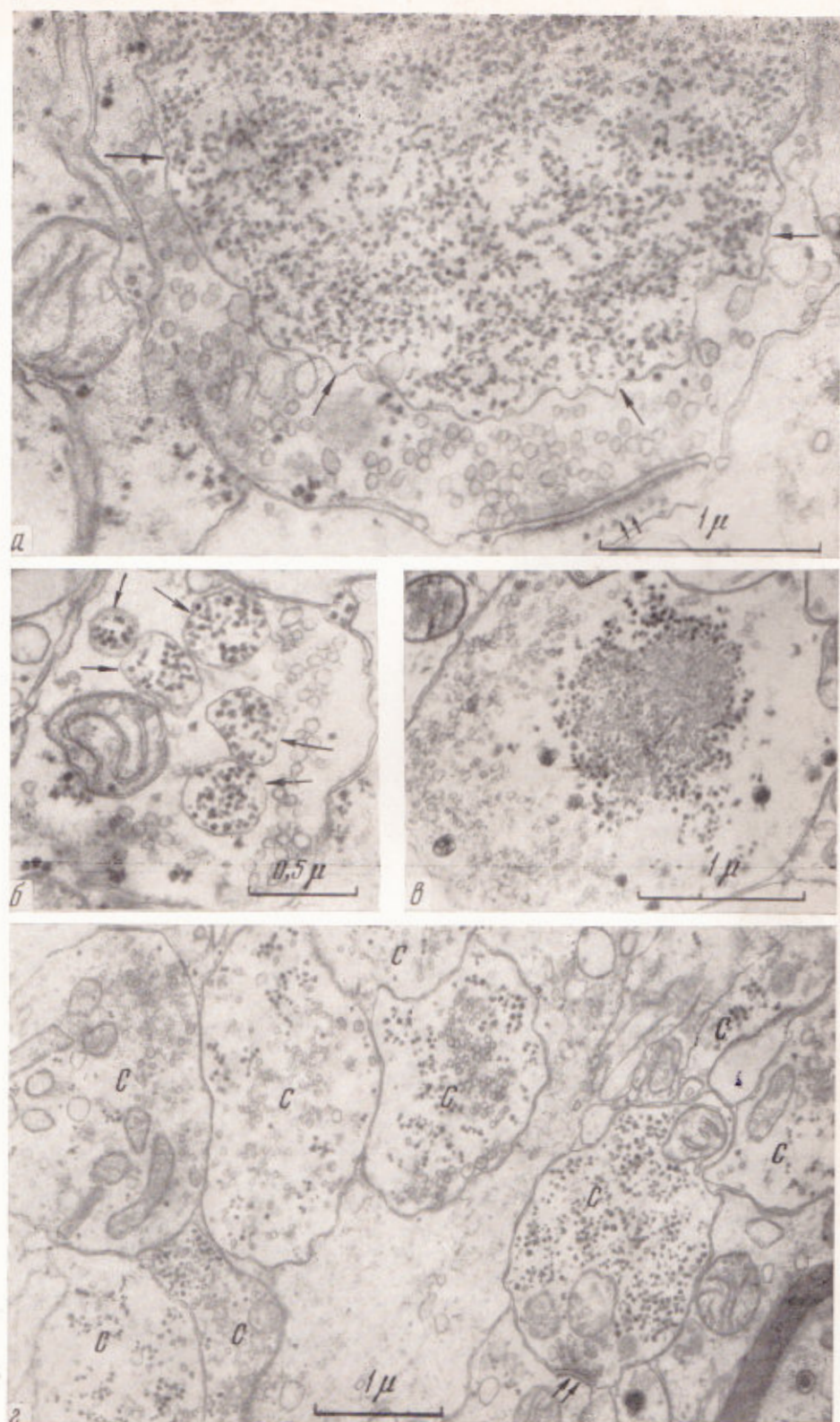


Рис. 2. Распределение гликогена в синаптических окончаниях ретикулярной формации степных верепов. *а* — громадный конгломерат гранул гликогена, окруженный мембраной (обозначены одиночной стрелкой); *б* — несколько конгломератов гликогена с мембранами; *в* — конгломерат гранул гликогена без мембраны; *с* — синаптические бляшки с рассеянными гранулами гликогена (*С* — синаптическое окончание). Параллельные стрелки — активные зоны синапса



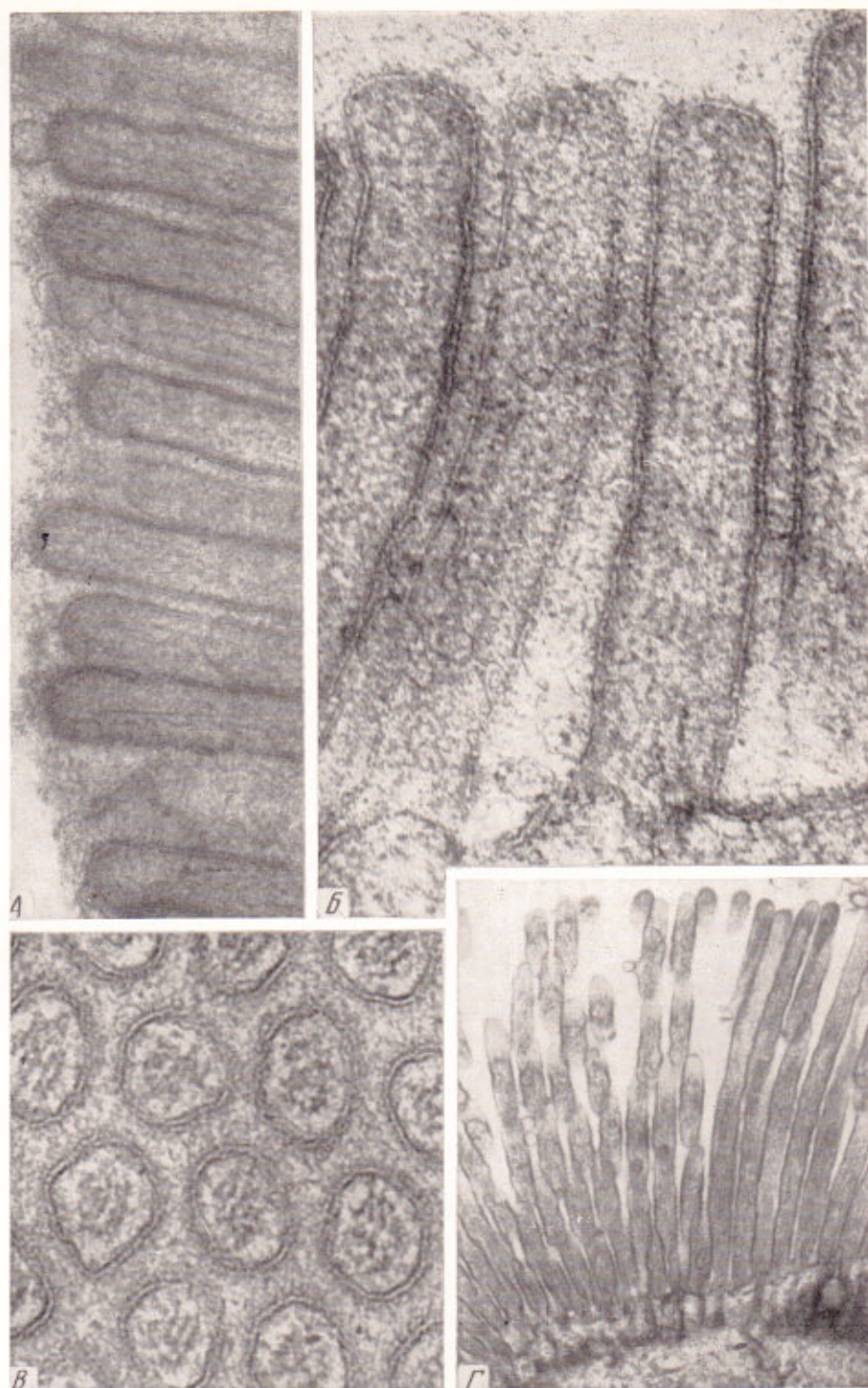


Рис. 1. Микроворсинки кишечной клетки. *А* — продольный срез (апикальная область); внутренний гликокаликс (в.г.) — на внешних и боковых поверхностях микроворсинок (66 500 ×). *Б* — продольный срез; в.г. в виде тонкофибриллярной сети, значительно более плотной на боковых поверхностях наружной части микроворсинок (130 000 ×). *В* — поперечный срез; в.г. занимает большую часть свободной от микроворсинок поверхности клетки; есть участки в.г. не связанного с липопротеиновой мембраной; упорядоченное расположение микроворсинок, приближающееся к гексагональной упаковке (130 000 ×). *Г* — продольный срез; в.г. отсутствует (18 000 ×)



Гликоген располагался на клетке, так же как и синаптические окончания, отдельными группами (рис. 1). Если принять во внимание, что синапсы на ретикулярном нейроне принадлежат разным аксонным системам, то можно предположить, что часть этих систем может функционировать, а часть — находиться в нерабочем состоянии. Мы полагали, что гликоген синтезируется в основном в не работающих в данный момент синаптических окончаниях. Исходя из этих соображений, мы и решили взять для исследования ретикулярную формацию черепах, причем находящихся в

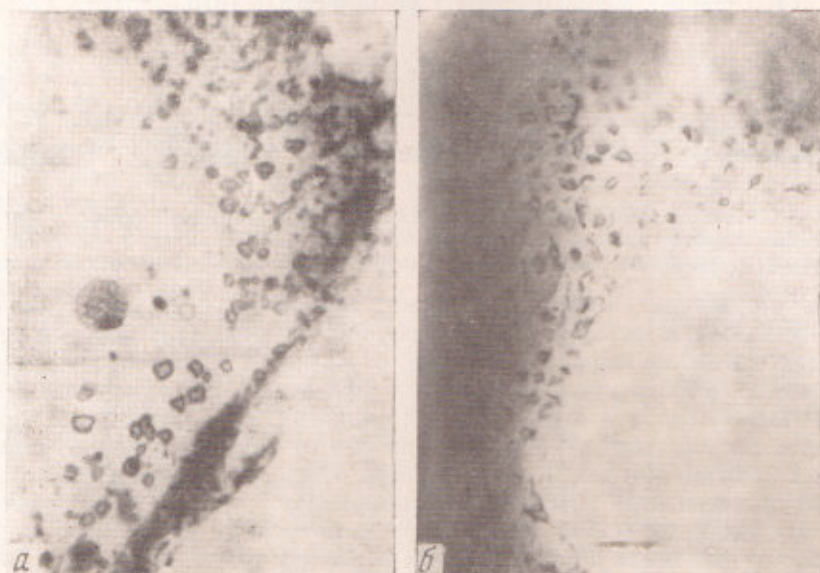


Рис. 1. Синаптические окончания на нейроне ретикулярной формации мозгового ствола кошки, *a* — метод на гликоген по Шабадашу; *б* — метод импрегнации серебром по Дейнеке. Микроскоп МБИ-6; ок. 10, об. 90 X

спячке. Как известно, в состоянии спячки у животного снижается активность многих физиологических функций, непосредственно связанных с ретикулярной формацией мозгового ствола (кровообращение, дыхание, регуляция мышечного тонуса и т. д.). Приток импульсов на ретикулярные нейроны соответственно уменьшается, т. е. некоторые синапсы должны находиться в нерабочем состоянии.

При электронномикроскопическом изучении ретикулярной формации черепах мы очень часто находили в синаптических бляшках электронноплотные гранулы (200—300 Å в диаметре). Как правило, последние отсутствовали в дендритах и цитоплазме ретикулярных нейронов (рис. 2*г*). Учитывая наши гистохимические исследования, а также приведенные выше литературные данные по электронной микроскопии полисахаридов, мы идентифицировали эти гранулы как гликоген. В нашем материале гранулы гликогена часто занимали почти всю синаптическую бляшку, располагаясь между синаптическими пузырьками (см. рис. 2*г*). Гранулы распределялись или рассеянно, или же небольшими группками. Количество гликогена в различных бляшках варьировало. Как правило, в области активных зон синапса мы не наблюдали гранул полисахарида (см. рис. 2*г*).

Нам удалось заметить, как в некоторых синаптических окончаниях ретикулярной формации черепах отдельные гранулы гликогена объединялись в конгломераты и эти конгломераты окружались единичной мембраной. Такие окруженные мембраной скопления гликогена иногда занимали почти всю бляшку (рис. 2*а*). Мы никогда не наблюдали в них синаптических пузырьков. Подобные агрегаты гликогена с единичной мембраной были описаны в цитоплазме В-нейронов спинальных ганглиев зимних лягушек (<sup>10</sup>).



Иногда в синаптических бляшках мы видели несколько отдельных скоплений гликогена, каждое из них было окружено единичной мембраной (рис. 2б). Нам удалось выделить в синаптических бляшках агрегаты гликогена, где мембрана отсутствовала. В этом случае создавалось впечатление, что единичная мембрана или еще не образовалась, или уже растворилась (рис. 2в).

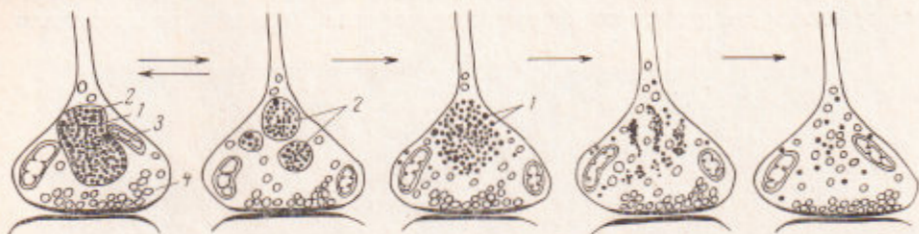


Рис. 3. Схема, показывающая отдельные этапы использования гликогена для нужд функционирующего синапса. 1 — отдельные гранулы гликогена; 2 — конгломераты гликогена, покрытые мембраной; 3 — митохондрии; 4 — синаптические везикулы.

При отсутствии активного питания, замедленном функционировании кровообращения и дыхания во время сна должны реализоваться резервные энергетические запасы организма, в частности гликоген. Поэтому нам казалось, что в нашем материале можно проследить не только способ отложения полисахарида в неработающих синапсах, но и разные переходные стадии, когда гликоген реализуется для обеспечения энергией функционирующих бляшек. На рис. 3 представлены отдельные этапы использования запасов гликогена для нужд функционирующего синапса. Естественно что схема эта гипотетическая, однако все рассмотренные на ней этапы действительно имеют место в ретикулярной формации черепахи (см. рис. 2а—г).

На основании наших наблюдений можно говорить о некоторых элементах автономности в работе синаптической бляшки. Автономность обеспечивается наличием в синаптическом окончании энергетических запасов в виде гликогена. По всей вероятности, синтез гликогена может осуществляться в самой синаптической бляшке. В литературе есть некоторые указания по этому вопросу<sup>(11)</sup>. Об автономности работы синаптической бляшки говорит также способность ее к синтезу белка<sup>(12, 13)</sup>. Нам кажется, что синаптическое окончание обладает возможностью для синтеза белка, идущего на строительство мембран. Об этом свидетельствуют наши данные о наличии мембран, окружающих громадные конгломераты гликогена (см. рис. 2а). Последние образуются в самом синаптическом окончании и там же покрываются мембраной, иначе трудно себе представить транспортировку такого конгломерата гликогена по тонкому претерминальному волокну в бляшку.

Дальнейшее исследование синтеза и реализации гликогена в синаптическом окончании поможет, как нам кажется, полнее узнать интимные свойства синапса.

Институт нормальной и патологической физиологии  
Академии медицинских наук СССР  
Москва

Поступило  
15 I 1970

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> А. Л. Шабаташ, Гистохимия гликогена нормальной нервной системы, М., 1949. <sup>2</sup> Т. Генчев, В кн.: Структура и функция нервной системы, М., 1962, стр. 110. <sup>3</sup> E. G. Gray, J. Anat. London, 97, 101 (1963). <sup>4</sup> F. Walberg, Exp. Brain Res., 2, 407 (1966). <sup>5</sup> F. De Ribaupierre, Brain Research, 11, 42 (1968). <sup>6</sup> А. Л. Микеладзе, И. Л. Лазриев, Арх. анат., гистол. и эмбриол., 56, 28 (1969). <sup>7</sup> Т. В. Давыдова, Цитология, 11, 286 (1969). <sup>8</sup> R. F. Baker, J. Histochem. and Cytochem., 11, 284 (1963). <sup>9</sup> J. P. Revel, J. Histochem. and Cytochem., 12, 404 (1964). <sup>10</sup> C.-H. Berthold, J. Ultrastructure Res., 14, 254 (1966). <sup>11</sup> H. Rahmann, Exp. Brain Res., 6, 32 (1968). <sup>12</sup> L. A. Autilio, S. H. Appel et al., Biochemistry, 7, 2645 (1968). <sup>13</sup> J. Morgan, L. Austin, J. Neurochem., 15, 41 (1968).