

Н. А. СМИТТЕН, С. И. ЖАРИКОВ, А. Ю. БУДАНЦЕВ

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ НОРАДРЕНАЛИНА В ПАРАГАНГЛИЯХ

(Представлено академиком Е. М. Крепом 22 XI 1973)

О физиологической роли шейно-грудных параганглиев млекопитающих в настоящее время существует две точки зрения. Первая из них подразумевает за параганглионарными структурами хеморецепторную функцию (¹⁻³). Основные аргументы такого утверждения заключались в следующем: отсутствие в параганглиях гистохимически обнаруживаемых гормонов; расположение их вблизи тех сосудов, где регистрация химических сдвигов крови и условий гемодинамики важна для анализа кровоснабжения мозга; характер иннервации параганглиев.

Другая точка зрения, основанная на результатах фило- и онтогенетического анализа симпато-адреналовой системы позвоночных (⁴), признает за параганглионарными структурами шейно-грудной области роль эндокринных желез, но с редуцированной функцией. Согласно этой концепции, существует преемственная связь между анатомическим распределением хромаффиновой ткани у низших и параганглиями шейно-грудной области высших позвоночных животных. Обоснованием гомологии этих структур служат сравнительно-морфологические исследования, которые показали диффузное распределение хромаффиновой ткани низкоорганизованных животных в сердце, вдоль системы магистральных сосудов туловища, в том числе жаберных артерий, и дальнейшие изменения ее вместе с филогенетическими преобразованиями жаберного аппарата. Морфологическая эволюция жабер частично приводит к формированию присердечных сосудов — дуги аорты, легочных и сонных артерий, а частично — к полной атрофии или редукции артериальных и венозных дуг, вовлекая в этот процесс спаянную с их стенками хромаффиновую ткань. Последняя размещается у млекопитающих в виде недоразвитых рудиментарных островков (параганглиев) на тех участках кровеносных сосудов, в образовании которых принимают участие жаберные дуги (в устье легочной артерии и по ее ходу, в дуге аорты у места отхождения боталловой связки, в подключичных артериях, в бифуркации сонных артерий и других местах). Структурное недоразвитие параганглиев шейно-грудной области млекопитающих, как любого рудиментарного органа, предполагает функциональную его редукцию и, следовательно, снижение способности к выработке специфических гормонов.

В соответствии со сказанным задача настоящего исследования заключается в выявлении норадреналина в параганглионарных клетках шейно-грудной области и количественном определении этого гормона в тканевых срезах каротидного параганглия крысы в сравнении с мозговым слоем надпочечников. Качественный и количественный гистохимический анализ норадреналина служит одним из обоснований принадлежности параганглиев к единой эндокринной адреналовой системе и дает возможность объективным (количественным) методом подтвердить редуцированные эндокринные свойства параганглионарных клеток и определить степень этой функциональной редукции.

Работа проведена на крысах, морских свинках и щенках. Качественная реакция на норадреналин проводилась на каротидных, аортальных и

легочных параганглиях. Норадреналин выявлялся люминесцентно-гистохимическим методом Фалька и Омана⁽⁵⁾. Материал замораживался в жидком азоте, лиофилизировался, обрабатывался газообразным формальдегидом при 80° в течение 1 часа и заливался в парафин в вакууме. Срезы 5—6 м толщиной депарафинировались и просматривались в люминесцентном микроскопе МЛ-2. Контрольные препараты изучались без обработки формальдегидом. Люминесценция параганглиев изучалась у нормальных животных (крысы, морской свинки, щенка) и с введением резерпина (у крысы). Шести крысам резерпин вводился подкожно в течение 4 суток через каждые 24 часа в дозе 0,25 мг на 100 г веса. Эти животные были разделены на 2 группы. У крыс первой группы надпочечник и каротидный параганглий брались через 4 часа после последнего введения резерпина, а у крыс второй группы — через 24 часа после последнего введения. Четверем крысам резерпин вводился однократно подкожно в дозе 2,5 мг на 100 г веса, и материал брался через 24 часа после введения.

Количественный анализ норадреналина в тканевых срезах каротидных параганглиев и мозгового слоя надпочечников крыс проводился на микрофлюориметре, собранном на основе люминесцентного микроскопа МЛ-2Б. Для возбуждения люминесценции использовалась ртутная лампа ДРШ-250 с набором светофильтров СЗС-14-4 и ФС-1-4. В качестве запирающего использовался светофильтр ЖС-18. Диаметр фотометрируемой площади 12,5 м, что приблизительно соответствует диаметру исследуемых клеток. Свет люминесценции с отдельных клеток регистрировался ФЭУ-27, который питался от высоковольтного стабилизатора ВС-22. Сигнал с ФЭУ регистрировался микроамперметром типа М-95.

Проведенные с помощью метода Фалька исследования показали наличие катехоламинов в шейно-грудных параганглиях морской свинки и щенка и подтвердили их наличие в параганглиях крыс, описываемое у них и других млекопитающих⁽⁶⁻¹⁴⁾. На рис. 1а показаны люминесцирующие клетки, содержащие норадреналин каротидного параганглия крысы, расположенного в месте бифуркации общей сонной артерии. Этот параганглий представляет собой скопление мелких клеток, разделенное на дольки, между которыми расположено большое количество волокнистых структур соединительной ткани (рис. 1б). Флюоресцирующее вещество распределяется в цитоплазме в виде ободка, окружающего нефлюоресцирующее ядро. Параганглионарные клетки включают разное количество биогенных аминов, т. е., возможно, находятся на разных стадиях секреторного цикла, что говорит об их эндокринной природе (рис. 1в).

Парааортальный параганглий (рис. 1г) и параганглий, расположенный в области легочной вены (рис. 1д), образованы мелкими клетками, содержащими норадреналин и разделенными друг от друга соединительнотканными прослойками. Характерным и постоянным признаком этих и каротидных параганглиев является их расположение в адвентициальной оболочке кровеносных сосудов, т. е. вдали от просвета сосуда. Обнаружены также одиночные хромаффинные клетки, расположенные в миокарде предсердия крысы (рис. 1е).

В опытах с резерпином было показано, что через 4 часа после четырехкратного его введения количество норадреналина в клетках мозгового вещества надпочечника уменьшалось в два раза. Через 24 часа после последнего введения резерпина наблюдался еще больший выброс катехоламинов и их содержание в клетках надпочечника уменьшалось в три раза по сравнению с нормой. Через сутки после одноразового введения резерпина в больших дозах количество норадреналина уменьшается приблизительно в 6 раз (табл. 1).

Иные изменения наблюдаются в содержании катехоламинов в каротидном параганглии. Через 4 часа после 4-кратного введения резерпина в параганглионарных клетках происходит уменьшение содержания катехоламинов приблизительно в два с половиной раза. Однако через 24 часа на-

Содержание норадреналина в параганглионарных клетках и клетках мозгового слоя надпочечников интактных и резерпинизированных крыс (в относительных единицах)

Сроки взятия материала после введения резерпина	Число исследованных животных	Содержание норадреналина	
		надпочечник	параганглий
Интактные животные	8	122±3	37±2
4 часа после 4-го введения	3	67±5	12±1
24 часа после 4-го введения	3	41±2	15±1
24 часа после однократного введения	4	28±7	6±1

ступает некоторое восстановление катехоламинов и их количество составляет 50% от нормы. Одноразовое введение резерпина в больших дозах вызывает приблизительно те же изменения, что и в надпочечнике: происходит уменьшение содержания норадреналина в параганглионарных клетках в 6 раз (табл. 1).

Количественный анализ люминесценции катехоламинов показал, что в норме содержание норадреналина в надпочечнике больше, чем в параганглионарных клетках, приблизительно в 4 раза. Эти результаты сравнимы с данными электронной микроскопии⁽¹²⁾, показывающими, что клетки каротидного параганглия содержат небольшие количества гормонов, находящихся в более мелких (0,05–0,15 м), по сравнению с мозговым слоем надпочечников, осмиофильных гранулах (0,05–0,4 м). Обнаруженное различие в содержании норадреналина можно рассматривать как признак низкой интенсивности синтетических процессов в параганглионарных клетках по сравнению с клетками мозгового слоя надпочечников.

Приведенные в настоящей статье материалы позволяют заключить следующее. 1. Люминесценция цитоплазмы клеток всех исследованных параганглиев, обнаруженная при помощи специфического гистохимического метода Фалька и Озмана, а также в опытах с резерпинизацией животных, обусловлена присутствием в указанных клетках катехоламинов. 2. Однотипная реакция на введение резерпина со стороны мозгового слоя надпочечников и параганглиев говорит о том, что формы и механизмы накопления и сохранения биогенных аминов в обоих органах одинаковы. Исходя из того, что мозговой слой надпочечников является эндокринной железой, следует признать, что и параганглии принадлежат к эндокринным органам. 3. Небольшое количество норадреналина в параганглиях по сравнению с надпочечником может служить показателем редуцированной эндокринной функции параганглионарных структур.

Институт биологической физики
Академии наук СССР
Пушкино-на-Оке

Поступило
23 X 1973

Институт биологии развития
Академии наук СССР
Москва

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ F. De Castro, Trab. Lab. Invest. Biol. Univ., v. 85, 331 (1928). ² G. Muratori, Monit. Zool. Ital., v. 45, 300 (1935). ³ W. S. Adams. The Comparative Morphology of the Carotid Body and Carotid Sinus, 1958. ⁴ Н. А. Смиттен, Симпато-адреналовая система в фило- и онтогенезе позвоночных, «Наука», 1972. ⁵ B. Falk, Ch. Ozman, Acta univ. Lundensis, v. 2, 7 (1965). ⁶ Э. Х. Приймак, ДАН, т. 128, 618 (1959). ⁷ Э. Х. Приймак, Арх. анат., гистол. и эмбриол., т. 43, 66 (1962). ⁸ N. A. Smitten, Fluorescence of Catecholamines in the Paraganglia; Доклад на IX Международном конгрессе анатомов, Л., 1970. ⁹ G. Muratori, Arch. Ital. Anat. Embriol., v. 73, 133 (1968). ¹⁰ А. В. Сахарова, Автореф. кандидатской диссертации, 1971. ¹¹ S. Dolezel, V. Kovalcik, M. Kriska, Experientia, v. 24, 442 (1968). ¹² L. D. Lever, P. R. Lewis, I. D. Boyd, J. Anat., v. 93, 478 (1959).

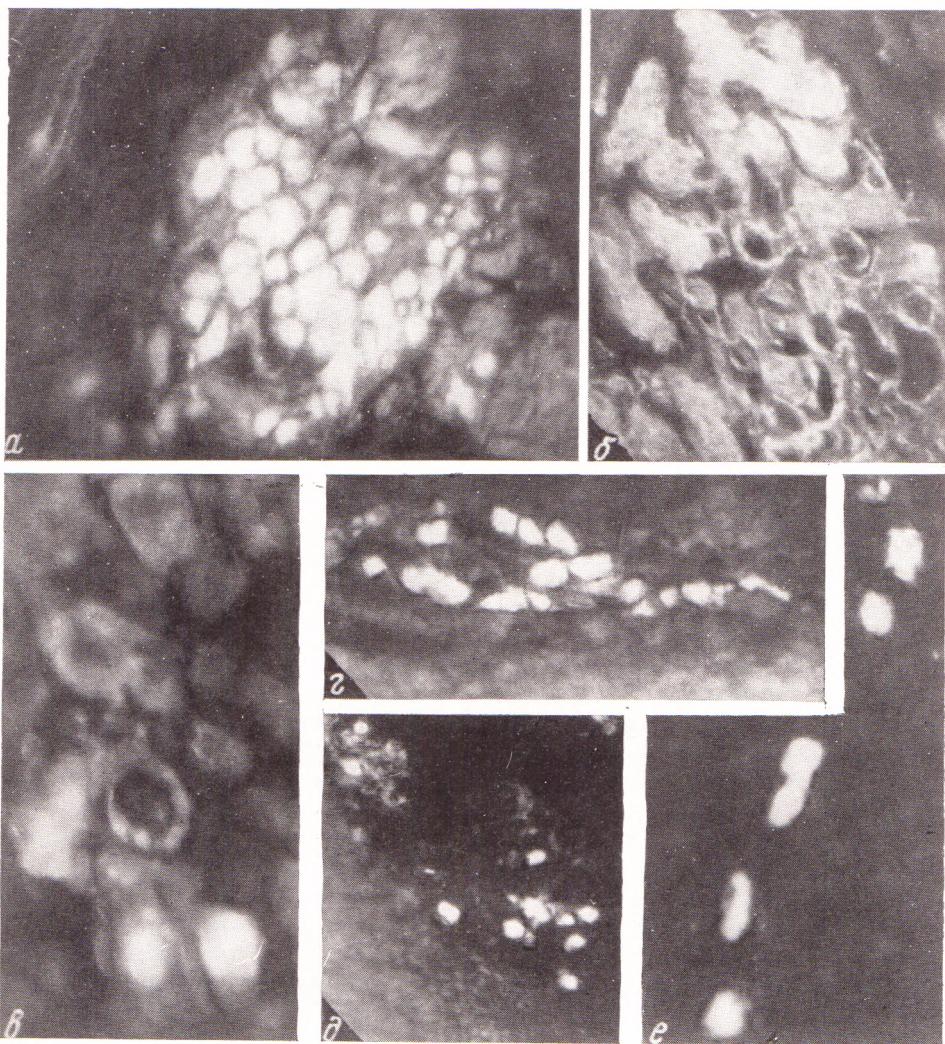


Рис. 1. *a* — каротидный параганглий, 30×; *б* — соединительнотканые структуры в каротидном параганглии, 60×; *в* — секреторный цикл в параганглионарных клетках, 200×; *г* — парааортальный параганглий, 60×; *д* — параганглий в области легочной вены, 30×; *е* — хромоаффинные клетки в миокарде предсердия, 60×