

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕРВНОГО АППАРАТА ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ ПОРΟΣЯТ В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

Т.М. Скудная

УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 29.06.2012 г.)

Аннотация. В раннем постнатальном онтогенезе интрамуральная нервная система двенадцатиперстной кишки поросят содержит значительный процент нейробластов. В этот период нейроны обладают высокой пластичностью, что необходимо учитывать при выращивании поросят.

Summary. In the early postnatal ontogenesis of intramural nervous system of the duodenum of pigs contains a significant percentage of neuroblasts. During this period, neurons have a high plasticity, which should be considered in growing pigs.

Введение. Ведущая роль в осуществлении приспособительных реакций двенадцатиперстной кишки принадлежит ее нервной системе, хотя до настоящего времени не проводилось глубоких ультраструктурных исследований слизистой оболочки и интрамуральной нервной системы двенадцатиперстной кишки поросят.

Кишечник имеет сенсорные рецепторы, его нервная система содержит первичные афферентные, вставочные и моторные нейроны и функционирует независимо от центральной нервной системы. Нервная система кишечника может поддерживать обратную связь с ганглиями, возвращая импульс от центральной нервной системы. Мышцы, слизистая оболочка и сосудистая система иннервируется сплетениями Мейснера, расположенными в подслизистой и сплетениями Ауэрбаха, расположенными между продольными и циркулярными мышечными слоями. Ультраструктура их чрезвычайно сложна. Выявлены ингибиторные и возбуждающие, холинергические и нехолинергические, норадренергические, внутренние и внешние волокна. Интрамуральная нервная система через всю эту группу нейромедиаторов регулирует моторику [4, 5, 6].

Выявлено, что к моменту рождения животных в стенке двенадцатиперстной кишки четко определяется закладка мышечно-кишечного и подслизистого сплетений. Однако значительная часть нервных структур этих сплетений еще находится в стадии роста и дифференцировки [1].

В связи с этим актуальным является исследование ультраструктурной организации нервной системы двенадцатиперстной кишки поросят-нормотрофиков и поросят-гипотрофиков в интактных условиях и под влиянием биологически активных веществ и ростостимуляторов [2, 3, 7].

Цель работы – изучить структурную организацию интрамуральной нервной системы двенадцатиперстной кишки поросят-гипотрофиков в раннем постнатальном онтогенезе, так как наибольшая и сложная часть периферической автономной нервной системы сосредоточена в пищеварительном тракте.

Материал и методика исследований. Материалом исследований служила двенадцатиперстная кишка. Для проведения морфологических исследований были использованы поросята 1-, 15-, 30-, 45- и 60-дневного возраста. Всего было исследовано 25 животных.

Материал для проведения морфологических исследований был получен непосредственно в хозяйстве. После эвтаназии и вскрытия животных отбор проб двенадцатиперстной кишки осуществлялся не позднее 10-15 мин. Материал для гистологического и гистохимического исследований фиксировался в 10%-ном нейтральном формалине. Для выявления РНК применяли метод Браше с использованием метилового зеленого и пиронина.

Материал заливали в парафин. Срезы готовили на санном микротоме МС-2 и микротоме для парафиновых срезов – МПС-2. Из нефиксированного материала получали криостатные срезы на микротоме-криостате МК-25. Толщина срезов при резке на криостате составляла 8-10 мкм, на микротоме – 10-12 мкм.

Нейрофибрилярные методы импрегнации серебром позволяют отличать нейроны от глии и фибробластов, хорошо прослеживается аксон и дендриты на значительном расстоянии, дают возможность идентифицировать тип нейронов и проводить сравнительное изучение, а также оценить степень структурной трансформации в тканях развивающегося организма. Ядро слабо окрашивается солями серебра, в то время как ядрышко отличается высокой степенью аргентофильности, вследствие чего ядро выглядит «пустым» и хорошо выделяется на фоне нейрофибрилл.

Методы серебряной импрегнации, алаптированные для нервных структур по Большовскому - Грос и в модификации Б.И. Лаврентьева, Рассказовой, Кампос, Гольджи-Кокса, дают возможность идентифицировать типы нейронов интрамуральных ганглиев и служат достоверным критерием отличия нервных клеток.

Для раздельного изучения мышечно-кишечного и подслизистого сплетений приготавливали тотальные препараты. Образец фиксировали на восковом лотке слизистой оболочкой вверх. Слизистая оболочка отделялась от мышечной при помощи поднимания одного края с последующим отслоением пинцетом и маленькими ножницами (лезвие 2,5 см). Мышечная оболочка отделялась, а слизистая вместе с подслизистой основой закреплялась на воске подслизистой частью вверх.

Подслизистая основа отделялась от слизистой оболочки аналогичным способом. Подслизистая часть слегка растягивалась и затем закреплялась на силиконовой резине. При помощи маленьких секущих ножниц (лезвие 3 мм) от подслизистого нижнего слоя отделяли верхний, а потом и средний слой. Эти слои соответствовали уровням подслизистого сплетения, обращенного к круговому слою мышечной оболочки.

Результаты исследований и их обсуждение. Во все проведенные сроки исследования нейроны представляют собой смешанную популяцию клеток, где встречаются уни-, би- и мультиполярные нейроны с длинными и короткими отростками.

В период от 1- до 45-дневного возраста преобладают кольцевидные формы ганглиев, по периметру которых сосредоточены нейроны. Нейроны образуют своими отростками замкнутое кольцо. Центральная часть ганглия свободна от клеток и нервных отростков.

Начиная с момента введения в рацион поросят подкормки (с 12-дневного возраста), происходит вытягивание ганглиев по длине кишечника, и они принимают продолговатую форму, а нейроны смещаются к полюсам узлов. Само кольцо становится толще за счет усиленного развития нервных отростков.

После 45-дневного возраста по мере развития кишки диаметр кишечника увеличивается и ганглии приобретают прямоугольную форму, напоминая квадрат. В ряде случаев одна сторона такого ганглия «прорывается», образуя как бы «ворота» узла. Образуется мощная нервная сеть, которая распространяется по всем участкам узла и за его пределы. Исходя из конфигурации ганглиев, расположение нейронов может быть однополюсное, двухполюсное, концентрическое, многополюсное и центральное. Более четкая картина в особенностях топографии нейронов в раннем возрасте отмечается в подслизистом сплетении по сравнению с мышечно-кишечным.

К конструктивным перестройкам в этот период следует отнести увеличение длины дендритов (дендритный спраутинг), повышение степени разветвленности (рамуфикация), увеличение их количества, смещение узлов ветвления с проксимальных на новые более дистальные отделы отростков. Наибольшей пластичностью структуры нейрона обладают на протяжении 15-45-дневного возраста. Особенно сильными пластическими свойствами обладают дендриты, которые находятся под контролем генетической программы.

Постнатальное развитие структур и функций кишечника и его иннервационного аппарата сказывается на процессах всасывания питательных веществ. Корреляционные связи между диаметром нейронов I и II типов Догеля и живой массой новорожденных поросят составляют

$r=0,43\pm 0,07$, а между диаметром ядер соответственно $r=-0,45\pm 0,02$ и $r=0,55\pm 0,04$. В последующие возрастные периоды эти связи были на уровне $r=-0,25\pm 0,01$ и $r=-0,3\pm 0,03$.

Таблица 1 – Изменение нервных элементов интрамуральных ганглиев двенадцатиперстной кишки поросят в постнатальном онтогенезе, $n=25$

Морфометрические параметры	Возраст, дни				
	1	15	30	45	60
Диаметр нейронов, мкм:					
I типа Догеля	13,8-17,1	15,3-19,1	16,5-21,4	17,8-22,6	17,9-23,6
II типа Догеля	12,6-15,3	13,2-18,5	17,4-22,5	18,5-24,9	18,8-25,7
Диаметр ядер, мкм:					
I тип Догеля	7,6-10,5	7,7-10,9	8,3-11,2	8,5-11,9	8,7-12,1
II типа Догеля	8,2-8,9	8,3-9,2	8,5-10,4	9,2-12,0	9,5-12,3
Толщина нервных пучков, мкм	29,4±8,6	31,3±7,2	35,4±6,2	38,6±7,3	39,3±6,5
Расстояние между ганглиями, мкм	307,4	348,7	431,3	626,7	637,2
Плотность нейронов на 1 мм ²	273,4	216,8	189,6	176,6	163,5
Площадь, занимаемая дендритами, мкм ²	446,5	528,4	821,3	1046,4	1123,4

Из таблицы 1 видно, что наибольшие морфометрические колебания наблюдаются до 45-дневного возраста. После 45 дней количественные изменения не столь существенны. Наступает своеобразная фаза «стабилизационного» состояния. С момента новорожденности диаметр нейронов I и II типов Догеля возрастает в среднем на 42,9%, ядер – на 17,7%, толщина нервных пучков – на 31,5%, расстояние между ганглиями увеличивается в 2 раза, а площадь, занимаемая дендритами – в 2,3 раза. В то же время плотность нейронов на 1 мм² уменьшается на 35,6%. Причина снижения плотности нейронов на единицу поверхности связана с тем, что на ранних этапах онтогенеза создается избыточный «запас» нейронов. Это необходимо для повышения «степени надежности» в процессе развития для формирования нервной клетки.

У новорожденных поросят в мышечно-кишечном сплетении нейробласты составляют 81,8%, в подслизистом сплетении – 90,7%. С 15- до 60-дневного возраста содержание нейробластов в мышечно-кишечном сплетении колеблется от 26,3 до 45,5%, в подслизистом сплетении – от 19,4 до 81,5%. Обнаружено, что после 30-дневного возраста более ускоренная дифференцировка нейронов наблюдается в подслизистом сплетении.

В нейропиле интрамуральных ганглиев исследованы количественные характеристики синаптических везикул. Преимущественно аксоны

содержат больше светлых синаптических пузырьков и несколько гранулярных везикул. Синаптические пузырьки образуют несколько зон активности с различными элементами нейрона – телом, перисоматическими выростами.

Таблица 2 – Размер синаптических пузырьков интрамуральных ганглиев двенадцатиперстной кишки поросят, n=25

Возраст, дни	Размер синаптических пузырьков, нм			
	агранулярные	CV	гранулярные	CV
Новорожденные	25,47±7,04	27,6	39,23±4,45	11,3
15	30,83±3,43	11,1	41,53±4,14	10,0
30	40,30±5,22	13,0	48,90±5,38	11,0
45	42,77±6,17	14,4	60,53±11,15	18,4
60	47,50±5,64	11,9	57,43±11,91	20,6

Как видно из таблицы 2, размер агранулярных пузырьков колеблется от 25,47 до 47,50 нм, а гранулярных – от 39,23 до 60,53 нм. Таким образом, форма, размер, количество синаптических пузырьков отчетливо выражает пластичность синаптических структур. Именно, через синаптические везикулы опосредуются межклеточные взаимодействия и отдельные элементы объединяются в функциональные системы. Неоднородность размеров синаптических пузырьков внутри аксонных терминалей является важным признаком перестройки синаптического аппарата и выражением потенциальных компенсаторных механизмов, связано с образованием, транспортом и выделением медиаторов.

Наиболее гетерогенные размеры синаптических везикул выявлены в возрасте 15-45 дней. Следовательно, высокая ранимость интрамуральной нервной системы в первые десять дней после рождения объясняется «недоразвитием» сложной системы межнейронных и нейротканевых отношений.

В раннем постнатальном онтогенезе интрамуральная нервная система двенадцатиперстной кишки поросят содержит значительный процент нейробластов, дифференцировка которых более интенсивно происходит с 15- до 45-дневного возраста. В этот период нейроны обладают высокой пластичностью, что необходимо учитывать при выращивании поросят.

Заключение. Полученные в результате проведенных исследований данные свидетельствуют о том, что интрамуральная нервная система двенадцатиперстной кишки обладает высокой пластичностью и способна перестраивать свою деятельность под влиянием алиментарных факторов и медикаментозных средств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Амвросьев, А.П. Адренергическая и холинергическая иннервация органов пищеварительной системы (гистохимическое и экспериментальное исследование) /А.П. Амвросьев. – Минск: Наука и техника, 1977. – 184 с.

2. Груздков, А.А. Адаптационно-приспособительные процессы: на примере мембранного гидролиза и транспорта /А.А. Груздков, В.М. Гусев, В.В. Егорова; под ред. акад. А.М. Уголева. – Л.: Наука, 1991. – 288 с.
3. Лавушева, С.Н. Структурно-адаптационные перестройки при энтеральной патологии у молодняка сельскохозяйственных животных /С.Н. Лавушева, И.М. Эльяшвили //Исследования молодых ученых в решении проблем животноводства: материалы Междунар. науч.-практ. конф. молодых ученых и преподавателей с.-х. учебных заведений и науч.-исслед. учреждений, Витебск, 22 мая 2002 г. /Витеб. гос. акад. ветер. мед. – Витебск, 2002. – С. 152-153.
4. Малашко, В.В. Биоструктурные аспекты возрастной морфологии интрамуральных ганглиев тонкой кишки свиней /В.В. Малашко, Н.В. Троцкая//Ученые записки УО «Витебская ордена «Знак почета» государственная академия ветеринарной медицины»: сб. науч. тр. /Витеб. гос. акад. ветер.мед.– Витебск, 2003. - Т 39, ч. 2. – С. 66-68.
5. Gershon, M.D. The nervous system of the gut /M.D. Gershon, S.M. Erde //Gastroenterology. – 1981. – Vol. 80, № 6. – P. 1571-1594.
6. Howard, E.R. Muscle innervation of the gut: structure and pathology /E.R. Howard //J. Roy. Soc. Med. – 1984. – Vol. 77, №11. – P. 905-909.
7. Winton, D.J. Stem-cell organization in mouse small intestine /D.J. Winton, B.A.J. Ponder //Proc. Roy. Soc. London B. – 1990. – Vol. 241, № 1300. – P. 13-18.