

4. Кормовая добавка для пчел: пат. RU 2625182С1 / С. А. Пашаян, В. В. Шишкина и др.; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Государственный аграрный университет Северного Зауралья» (ФГБОУ ВПО ГАУ Северного Зауралья). – № RU2016100619А; заявл. 11.01.2016; опубл. 12.07.2017.
5. Методы почвенной микробиологии и биохимии / отв. ред. Д. Г. Звягинцев. – Москва: МГУ, 1991. – 304 с.
6. Шагун, Я. Л. Методические указания к постановке экспериментов в пчеловодстве / Я. Л. Шагун. – М.: Россельхозакадемия, 2000. – 10 с.
7. Средство для стимуляции физиологических функций у пчел и защиты их от инфекционных заболеваний: пат. RU 2007130428 РФ А, С 12 N 1/20; заявитель Общество с ограниченной ответственностью «БИОФОРТ»; заявл. 08.08.2007; опубл. 20.02.2009.
8. Способ профилактики вирусных заболеваний пчел и повышения их продуктивности: пат. RU 2388219 РФ МПК7 А 01 К 47 / Г. А. Ноздрин, В. Г. Кашковский, А. А. Плахова; заявитель Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования Новосибирский государственный аграрный университет; заявл. 06.05.2008, опубл. 10.05.2010

УДК 611.89-018

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ МЕЖНЕЙРОННЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ ЖИВОТНЫХ

В. В. Малашко¹, В. Латвис², М. Анишаушка²

¹ – УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь

(Республика Беларусь, 230008, г. Гродно, ул. Терешковой, 28; e-mail: ggau@ggau.by)

² – Jakovo veterinarijos centras
Lithuania, 03147, Vilnius

Ключевые слова: нейрон, энтеральная нервная система, поросята, электронная микроскопия, синапс, синаптические везикулы, тонкий кишечник, ультраструктура, стереология, синаптогенез.

Аннотация. На протяжении 30-45-дневного возраста поросят наблюдается наиболее интенсивный рост и развитие нейронов всех сплетений (подслизистого, межмышечного, подсерозного) тонкого кишечника. Нейроны 1 и 2 типов Догеля формируют плотный нейропиль с хорошо развитыми многочисленными нервными отростками. В энтеральной нервной системе тонкого кишечника выделено шесть типов межнейронных контактов в зависимости от содержания в нервных окончаниях синаптических везикул. Степень созревания синапса характеризуется постепенным увеличением пресинаптической части, увеличением протяженности его активной зоны и изменением формы шипика.

MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL BASES OF NEURONAL INTERACTIONS IN THE NERVOUS SYSTEM OF ANIMALS

V. V. Malashko¹, B. Latvis², M. Anishaushkas²

¹ – EI «Grodno state agrarian University»

Grodno, Republic of Belarus

(Republic of Belarus, 230008, Grodno, 28 Tereshkova st.; e-mail:

ggau@ggau.by)

² – Jakovo veterinarijos centras

Lithuania, 03147, Vilnius

Key words: neuron, enteric nervous system, piglets, electronic microscopy, synapse, synaptic vesicles, small intestine, ultrastructure, stereology, synaptogenesis.

Summary. During the 30-45-day-old piglets the most intensive growth and development of all neurons of the plexuses (submucosal, intermuscular, podserozny) of the small intestine are observed. Neurons of 1st and 2nd Dogel types form a dense neuropil, well developed with numerous nerve processes. In the enteric nervous system of the small intestine six types of interneuronal contacts are distinguished, depending on the content in the nerve terminals of synaptic vesicles. The degree of the synapse maturation is characterized by a gradual increase in the presynaptic part, by the increase in the length of its active zone and by the change the spine shape.

(Поступила в редакцию 30.05.2018 г.)

Введение. Проблема взаимосвязи структуры и функции нейрона является одной из важнейших в современной нейрофизиологии. Наиболее существенное теоретическое и прикладное значение имеет вопрос о функциональных перестройках в структуре нервной клетки при различных нагрузках на животное. На основании многочисленных экспериментальных данных показано, что активация нейрона сопровождается перестройкой не только его структуры, но и метаболизма [9, 11, 12, 13].

Известно, что диапазон желудочно-кишечных функций зависит от степени зрелости энтеральной (интрамуральной, метасимпатической) нервной системы, разветвленности кишечных нервов, где консолидирующим фактором является интегрирующее влияние данной системы. Если ЦНС изучена достаточно полно с различных морфологических позиций, то потенциал и роль энтеральной нервной системы при различных состояниях пищеварительного тракта исследована фрагментарно. Многообразная полифункциональная деятельность органов желудочно-кишечного тракта обеспечивается тремя компонентами: высокоорганизованным кровеносным руслом с обильной и интенсивной

гемоциркуляцией; мощным энтеральным нервным аппаратом; местными эндокринными элементами [1, 6, 15].

Энтеральная нервная система, содержащая 10^8 нервных клеток, что аналогично количеству нейронов в спинном мозге, обладает характеристиками и свойствами, которые во многом сходны со свойствами и характеристиками ЦНС: 1) плотный нейропиль и много глиальных элементов; 2) отсутствует коллаген и малое внеклеточное пространство; 3) глиальные клетки, как и астроциты, на которые они подобны, обладают такими же биохимическими свойствами, например, наличие фибриллярного кислого белка, иммунологической специфичностью; 4) большое количество нейротрансмиттеров; 5) капилляры не проникают внутрь ганглия, они лежат за слоем глии, подобно мозговым сосудам, обладают малой проницаемостью, толстой стенкой и непроницаемыми швами между клетками. Можно говорить о гемато-энтеральном (миентеральном) барьере. Указанные свойства делают энтеральную нервную систему целой и единой моделью, необходимой для получения информации, касающейся механизмов регенерации и пластичности [2, 3, 4, 14, 17].

Одним из самых значительных фактов, которые были обнаружены при исследовании ультраструктуры, является существование множества различных типов нейронов и от 8 до 10 морфологически различных типов окончаний аксонов. Было идентифицировано 9 типов нейронов на основании размеров, распределения по пищеварительному тракту, расположению органелл, взаимоотношению с глией. Структурные и химические свойства нейронов не являются стабильными, а перестраиваются в зависимости от окружающей среды и возраста животного [5, 7, 19].

Рассмотрение структурных и функциональных перестроек энтеральной нервной системы представляет и самостоятельный интерес, т. к. позволяет вскрыть периоды структурно-функциональной перестройки нейронов, формирование и выход на базовый уровень нервной регуляции деятельности кишечника, а также описать пластические изменения в связи с возрастом и сменой субстратных нагрузок на пищеварительную систему [8, 10, 16, 18].

Цель работы – провести ультраструктурный анализ формирования межнейрональных связей на примере энтеральной нервной системы тонкого кишечника поросят в раннем постнатальном онтогенезе.

Материал и методика исследований. Для электронно-микроскопического исследования брали соответствующие участки тонкого кишечника поросят длиной 3-5 см, которые были лигированы, и интравитально вводили 2%-й раствор глутарового альдегида

методом диффузии. Для проведения исследований использовано следующее количество животных: новорожденных поросят – 5 голов; 5-дневных – 4; 15-дневных – 6, 30-дневных – 5 животных и 45-дневных – 4 животных. После вскрытия брюшной полости отбор проб проходил не позднее 10-15 мин после эвтаназии. При заборе материала стремились к максимальной стандартизации препаративных процедур при фиксации, проводке, заливке и приготовлении ультрасрезов.

В последующем ткани помещали в 5%-й раствор глутарового альдегида на 2 ч. Глутаровый альдегид готовили на 0,1М фосфатном буфере pH 7,2-7,4 и фиксировали при $t+4^{\circ}\text{C}$. Затем делали вертикальные разрезы по отношению к оси кишки и изготовляли кубики с длиной края 1-1,5 см. После 3-кратной промывки в 0,1М фосфатном буфере материал обрабатывали 2%-м раствором четырехокси осмия, дегидрировали в спиртах, возрастающей концентрации, контрастировали уранил ацетатом и заключали в аралдит. Ультратонкие срезы изготовляли с помощью алмазных ножей LKB JUMDI (Япония) на ультрамикротоме LKB Ultratome Bromma Nova (Швеция). Срезы изучали с помощью трансмиссионного электронного микроскопа JEM-100CX фирмы JEOL (Япония). Статистическую обработку цифрового материала проводили с использованием программного пакета Microsoft Excel. Достоверными считали различия между показателями при значениях $P < 0,05$ (Mann-Whitney U-test).

Результаты исследований и их обсуждение. Мы произвели подсчеты плотности микротрубочек на 1 мкм^2 площади поперечного сечения дендритов. Была установлена интересная зависимость числа микротрубочек от диаметра дендрита (таблица 1).

Таблица 1 – Плотность микротрубочек на 1 мкм^2 поперечного сечения дендрита

Нервные сплетения	Возраст, дни			
	1	5	15	30
Подслизистое	71,62±1,38	98,54±3,34	110,12±4,56	114,31±6,17
Межмышечное	97,28±4,51	112,09±4,44	134,05±5,65	145,83±7,26
Подсерозное	63,28±3,37	88,12±4,56	96,77±6,17	101,04±3,38

Отмеченные данные позволяют нам считать, что дендритические микротрубочки являются строго унифицированными органеллами и могут играть существенную роль в функции дендритов. Не исключено, что правильно пространственноорганизованные микротрубочки могут иметь отношение к проведению нервного возбуждения.

В целом для синапсов характерны две области сосредоточения везикул: непосредственно у специализированных участков синаптической мембраны и на расстоянии 300-400 нм от нее. В рамках этого положения выброс медиатора и рециклинг везикул осуществляются

«стратегически расположенной» группой синаптических везикул, образующей готовое к выделению ядро (вероятный структурный коррелят такой группы – скопление пузырьков непосредственно у активной зоны), тогда как другая группа является резервной, образуя «депо».

Проведенный анализ показал, что в энтеральной нервной системе можно выделить несколько типов нейрональных контактов. Мы различаем 6 типов контактов в зависимости от содержания в нервных окончаниях синаптических везикул (таблица 2).

Для синапсов 1 класса характерна большая плотность синаптических пузырьков, которые группируются различными способами. Пресинаптические профили могут быть полностью заполнены мелкими сферическими пузырьками, но в них могут быть и пустоты, которые заметны в зоне контакта. Очертания пресинаптических элементов могут быть от круглых до дискообразных, и их диаметр составляет 2,5-3,5 мкм.

Синаптические структуры 2 класса обладают тенденцией образовывать неправильные очертания, при этом максимальный диаметр может быть больше 4 мкм. Синаптические везикулы чаще свободно сосредоточены по всей синаптической терминали, но, как правило, более густо расположены в активной зоне. Часто под синаптическими уплотнениями локализуются субсоединительные тельца.

Таблица 2 – Классификация синапсов в энтеральной нервной системе тонкого кишечника

Класс	Тип контакта	Синаптические пузырьки
1	Ассиметричный	Мелкие, сферические, плотные
2	Ассиметричный	Мелкие, сферические, свободные, неплотные
3	Ассиметричный	Более крупные, сферические, неплотные
4	Симметричный	Плоские
5	Симметричный	Плеоморфные, неплотные
6	Симметричный	Плеоморфные и крупные с плотным центром

Синапсы 3 класса имеют форму бутона, формируют ассиметричные контакты и содержат более крупные синаптические пузырьки. Синапсы 4 класса преимущественно симметричного типа. Синаптические терминали зачастую удлинённые, их длинные отростки касаются постсинаптических профилей. Синаптические пузырьки свободно рассеяны по пресинаптическому окончанию. В синапсе 4 класса отсутствуют пузырьки с плотной сердцевинной. Большинство синапсов класса 4 – аксо-соматические образования.

Основное отличие синапсов 5 класса состоит в размере и форме синаптических пузырьков, которые обычно плеоморфны и сильно различаются по форме и размеру диаметров. Диаметр их длинной оси до-

стигает $38,5 \pm 5,3$ нм, короткой оси – $37,8 \pm 4,6$ нм. Максимальный диаметр пресинаптического профиля достигает $1,6-2,8$ мкм.

Синапсы 6 класса очень гетерогенны по размерам и количеству пузырьков. Основная характеристика заключается в наличии большого количества крупных пузырьков с плотной сердцевиной в пресинаптических профилях, при этом синаптические соединения представлены соединениями симметричного типа. Некоторые профили полностью заполнены мелкими прозрачными пузырьками, другие – практически пусты, содержат незначительное количество прозрачных везикул. Крупные пузырьки с плотной сердцевиной чаще локализируются на расстоянии 12-15 нм от активной зоны. Синаптические соединения 6 класса чаще обнаруживались на дендритах в интерварикозных и варикозных участках. В таблице 3 схематично представлены синаптические терминалы с различными везикулами. На рисунке 1 представлены электронограммы с различными видами синаптических пузырьков.

Таблица 3 – Виды нервных терминалей с различными категориями синаптических пузырьков в межмышечном сплетении тощей кишки

Нервная терминаль	Вид синаптического пузырька (везикулы)	Размер, нм	Кол-во, %
А. Холинергическая	 светлый, агранулярный	30-50	100
Б. Смешанная: холинергическая+адренергическая	 мелкие гранулярные	45-80	85:15
В. Смешанная: холинергическая+адренергическая+пуринергическая	 крупные непрозрачные	100-180	50:30:20

На протяжении 30-45-дневного возраста поросят наблюдается наиболее интенсивный рост и развитие нейронов всех сплетений (подслизистого, межмышечного, подсерозного) тонкого кишечника. Нейроны 1 и 2 типов Догеля формируют плотный нейропил с хорошо развитыми многочисленными нервными отростками (рисунок 2).

Особое внимание мы обратили на пластичность развивающегося синапса. На рисунке 3 изображены процессы синаптогенеза, которые мы функционально разделили на категории: «поиск цели», «стабилизация» и «перестройка». Они чаще изображаются как происходящие одновременно, однако рассматривать их целесообразно по отдельности.

Под поиском цели обычно подразумевается тенденция нейронов распространять свои отростки в определенном направлении и избирательно устанавливать нервные связи с определенной клеткой, минуя множество других нейронов.

Известны молекулы, которые необходимы для стабилизации синапсов. Они отвечают отчасти за переход ростового конуса в стабили-

зорованный синапс и включают в себя молекулы, ответственные за синтез, пакетирование и секрецию нейротрансмиттера в пресинаптическом окончании, а также за рецепторный синтез и агрегацию на синапсе везикул. В зависимости от функционального состояния, возраста, стресс-факторов наблюдается морфофункциональная перестройка в синапсе.

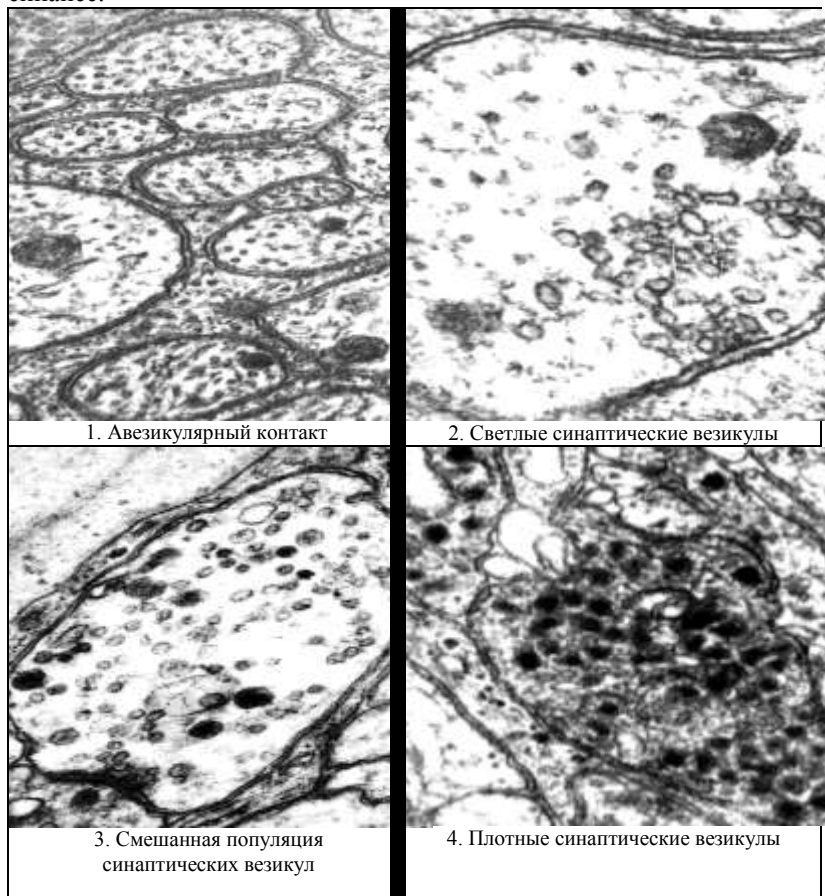


Рисунок 1 – Различные виды синаптических везикул в аксонных терминалах межмышечного сплетения тощей кишки. Электронограммы. Ув.: – 15000



Рисунок 2 – Морфология нейронов межмышечного сплетения тощей кишки 45-дневных поросят. Импрегнация серебром по Бильшовскому-Грос. Тотальные препараты по В. В. Малашко. Микрофото. Биоскан.
Ув.: а, б – 400; в – 280

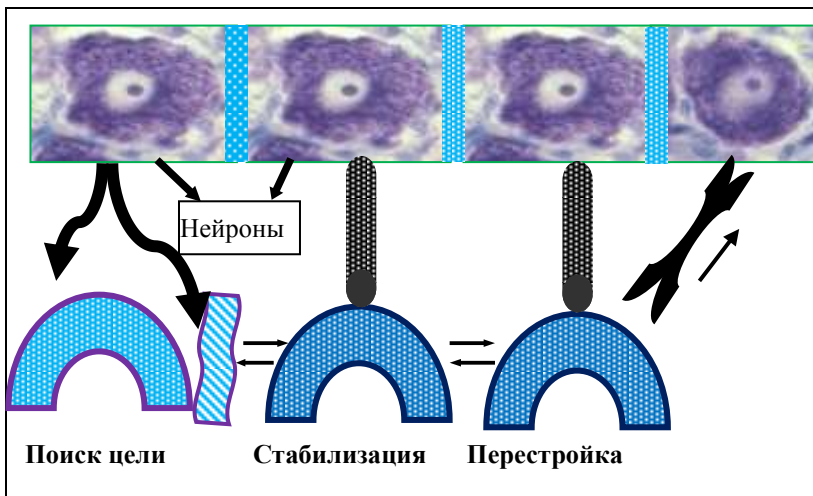


Рисунок 3 – Функциональная классификация синаптогенеза (схема)

Пластичность этой фазы синаптогенеза особенно характерна в «критический период» – ко времени рождения и в период новорожденности.

Степень созревания синапса характеризуется постепенным увеличением пресинаптической части, увеличением протяженности его активной зоны и изменением формы шипика. На всем протяжении исследований в среднем на один синапс приходилось активных зон от $1,23 \pm 0,45$ шт. до $2,17 \pm 0,36$ шт. Протяженность сечений активных зон в синапсе составляло от $311,66 \pm 98,43$ нм до $405,82 \pm 110,27$ нм. Ширина постсинаптических уплотнений колебалась в зависимости от возраста животных от $32,21 \pm 6,82$ нм до $65,33 \pm 7,15$ нм.

Заключение. Повышенный интерес к изучению структурных перестроек в нервной системе при измененных условиях определяется возможностью выявить механизмы процессов пластичности, компенсации и адаптации, а также поиском путей направленного воздействия на них. Как показывают наши исследования, наличие в нейропиле большого количества нервных волокон, имеющих различное происхождение, показывает всю сложность нейронной организации пищеварительного тракта, которая отвечает за тоническую и рефлекторную регуляцию функции слизистой оболочки.

В постнатальном онтогенезе животных первыми появляются энтеральные холинергические, серотонинергические, неадренергические, нехолинергические тормозные нейроны, позднее развиваются адренергические и в дальнейшем пептидергические нервные клетки. Одним из

самых значительных фактов, которые были обнаружены при исследовании ультраструктуры энтеральных ганглиев, является существование множества различных типов нейронов и отростков. В процессе развития меняется микроструктура ганглия, плотность расположения нейронов, микроганглии становятся более плотные, особенно в межмышечном сплетении тонкого кишечника. Наблюдается увеличение числа отростков и степень их ramifications, появляются многочисленные конусы роста, своеобразные аркады и извилистость нервных волокон. Формируются сложные ламеллярные конусы с явлениями спраутинга.

Таким образом, в первый месяц постнатального онтогенеза в энтеральной нервной системе животных отмечается рост нейронов, активный морфогенез нейронов, повышение экстрозионной активности, изменение формы клеток.

Работа выполнена при поддержке БРФФИ, проект № 17МС-007.

ЛИТЕРАТУРА

1. Артюхина, Н. И. Структурно-функциональная организация нейронов и межнейронных связей / Н. И. Артюхина. – М.: Наука, 1979. – 282 с.
2. Арчакова, Л. И. Ультраструктурные основы функциональной организации симпатических ганглиев / Л. И. Арчакова. – Минск: Полибиг, 1997. – 176 с.
3. Боголепов, Н. Н. Ультраструктура синапсов в норме и патологии / Н. Н. Боголепов. – М.: Медицина, 1975. – 94 с.
4. Косицын, Н. С. Микроструктура дендритов и аксодендритических связей в центральной нервной системе / Н. С. Косицын. – М.: Наука, 1976. – 198 с.
5. Малашко, В. В. Судьба авезикулярных межнейронных мембранных контактов в онтогенезе энтерального сплетения / В. В. Малашко // Структурные преобразования органов и тканей на этапах онтогенеза, в норме и при воздействии антропогенных факторов: тез. докл. междунар. конф. – Астрахань, 1996. – С. 178.
6. Малашко, В. В. Ультраструктурная организация интрамуральных нейронов тонкой кишки новорожденных поросят / В. В. Малашко // Функциональная и возрастная морфология свиней в эколого-экспериментальном освещении: сб. науч. тр. – Белгород, 1990. – С. 25-28.
7. Малашко, В. В. Ультраструктурный анализ постнатального развития энтеральной нервной системы поросят / В. В. Малашко, О. С. Сотников // Морфогенез и реактивная перестройка нервной системы: тр. СПб общества естествоиспытателей. – 1996. – Т. 76, вып. 5. – С. 30-40.
8. Манина, А. А. Ультраструктура и цитохимия нервной системы / А. А. Манина. – М.: Медицина, 1978. – 240 с.
9. Меркулова, О. С. Реакция нейронов на длительную стимуляцию / О. С. Меркулова, Ю. А. Даринский. – Л.: Наука, 1982. – 172 с.
10. Мошков, Д. А. Адаптация и ультраструктура нейрона / Д. А. Мошков. – М.: Наука, 1985. – 199 с.
11. Ноздрачев, А. Д. Нейронная пластичность энтеральной части метасимпатической нервной системы в раннем постнатальном онтогенезе / А. Д. Ноздрачев, В. В. Малашко, О. С. Сотников // Доклады академии наук. – Санкт-Петербург, 1995. – Т. 340, № 6. – С. 832-834.

12. Русаков, Д. А. Численные характеристики строения везикулярного аппарата синапсов в дорсальном роге спинного мозга кошки / Д. А. Русаков, Г. Г. Скибо, Д. А. Василенко // Нейрофизиология. – 1989. – Т. 24, № 5. – С. 597-605.
13. Сотников, О. С. Динамика структуры живого нейрона / О. С. Сотников. – Л.: Наука, 1985. – 159 с.
14. Сотников, О. С. Синтициальная цитоплазматическая связь и слияние нейронов / О. С. Сотников. – Санкт-Петербург: Наука, 2013. – 202 с.
15. Brauer, K. Ultrastructure og neurons and their synaptic contacts in the medial septal nucleus of the rat / K. Brauer, H. Ferenc, T. Tömböl // J. Hirnforsch. – 1990. – Vol. 31, N 1. – P. 123-132.
16. Couteaux, R. The differentiation of synaptic areas / R. Couteaux // Proc. Roy. Soc. London B. – 2003. – Vol. 158. – P. 475-480.
17. Giompres, P. E. The density and free water of cholinergic vesicles as a function of osmotic pressure / P. E. Giompres, V. P. Whittaker // Biochem. et biophys. acta: Gen. Subj. – 1986. – Vol. 882(G123), N 3. – P. 398-409.
18. Pitman, R. M. The versatile synapse / R. M. Pitman // Exp. Biol. – 1984. – Vol. 112, Mar. – P. 119-224.
19. Sharpless, S. R. Reorganization of function in the nervous system / S. R. Sharpless // Annu. Rev. Physiol. – 2007. – Vol. 26. – P. 257-388.

УДК 616.1-02:616.281-07

**МИКРОЦИРКУЛЯТОРНЫЕ НАРУШЕНИЯ В
ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СИСТЕМАХ ОРГАНИЗМА ЖИВОТНЫХ**
**В. В. Малашко¹, Н. К. Шавель¹, Д. Л. Шенгауг¹, В. Т. Бозер²,
М. Анишаушкас³, В. Латвис³, Д. В. Малашко⁴, Фариду
Абдулсатгар М. Амин⁵**

¹ – УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь

(Республика Беларусь, 230008, г. Гродно, ул. Терешковой, 28; e-mail: ggau@ggau.by)

² – РУК «Зоологический парк

г. Гродно, Республика Беларусь

³ – Jakovo veterinarijos centras,

Lithuania, 03147, Vilnius

⁴ – УО «Белорусская сельскохозяйственная академия»

г. Горки, Могилевская область, Республика Беларусь

(Республика Беларусь, 213410, г. Горки, ул. Мичурина, 10)

⁵ – Ветеринарный колледж, университет Сулеймани,

Курдистан, Ирак; e-mail: faraidoon.muhamad@univsul.edu.iq

Ключевые слова: пищеварительный тракт, микроциркуляция, патология, ультраструктура, кровеносные сосуды, телята, гипоксия, органеллы, ферменты.

Аннотация. При патологии тонкого кишечника телят наступает дефицит функционирующих истинных капилляров, т. к. часть истинных