

ДОСЛІДЖЕННЯ НЕЙРОНІВ ПІДЩЕЛЕПНОГО ГАНГЛІЯ МЕТОДАМИ ЕЛЕКТРОФІЗІОЛОГІЇ

Р. Л. Пархоменко^{1, а}, О. Е. Пурнинь²

¹Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»,
Фізико-технічний інститут

²Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України

Анотація

Дана стаття присвячена короткому огляду наукової літератури стосовно нейронів підщелепного ганглія щурів, їх морфологічним та електрофізіологічним властивостям.

Ключові слова: Нейрон, ганглії, електрофізіологія

Вступ

В даній статті буде розглянуто підщелепний ганглії ссавців, а саме щурів. Підщелепний ганглії належить до парасимпатичного відділу автономної нервової системи. Він іннервує підщелепні та під'язикові слинні залози. Роль підщелепної залози полягає у виробленні слини. В ссавців, нейрони цього ганглія розподілені в сполучній тканині між язиковим нервом та головними слинними протоками навколо залоз, а також в сполучній тканині навколо головних слинних проток в залозах (рис. 1).

1. Морфологічні та анатомічні відомості про нейрони підщелепного ганглія ссавців

Внутрішньозалозний підщелепний ганглії складається зі змінної кількості окремих груп гангліїв різних розмірів. Груба оцінка показує, що увесь ганглії налічує близько 3000–5000 клітин, розподілених в сполучній тканині Гілума та в інтерлобулярній септі, а також у видільних протоках підщелепної та під'язикової залоз. Кількість клітин ганглія варіюється, але майже не змінюється після народження. Не враховуючи мітотичних сателітних клітин, поділ клітин не відбувається [3]. Форма окремих гангліїв різна, залежно від розташування та кількості клітин, що вони містять. В регіоні Гілума більшість гангліїв великі та продовгуваті, а ті, що знаходяться глибше в залозах, менші. Великі ганглії загорнуті в капсулу зі сполучної тканини (рис. 2). Наявні також окремі клітини, загорнуті в сполучну тканину в Гілумі. Ядро має круглу або овальну форму, містить 1 чи 2 ядерця. Між клітинами наявні нервові волокна та невеликі сателітні чи шванівські клітини [2].

Щільність розподілу та морфологія клітин ганглію схожі в новонароджених та дорослих щурів, за винятком того, що в новонароджених щурів клітини

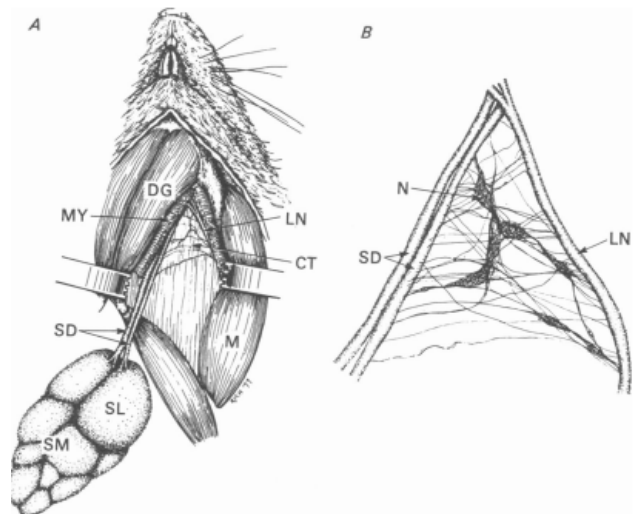


Рис. 1. Розташування підщелепного ганглія щура. А – клітини ганглію, які іннервують підщелепну (SL) та під'язикову (SM) слинні залози. Вони знаходяться в тонкому шарі сполучної тканини (CT). В – шар сполучної тканини, що обмежений язиковим нервом (LN) та слиновими протоками (SD) медіально. Кластери нейронів (N) можна побачити в цьому шарі. (Запозичено з [1])

загалом менші та капсули окремих гангліїв не так виражені. Окрім того, в новонароджених щурів клітини в гангліях розподілені більш щільно.

Сома звичайної клітини підщелепного ганглія має форму від круглої до овальної, має кілька довгих дендритів, короткі відростки також часто наявні. Вся поверхня соми нейрону, як правило, вкрита покривом із сателітних клітин, виключаючи ті ділянки, де наявні прямі контакти із дендритами, терміналами аксонів, або сомами інших клітин. Ядро часто розташоване поза центром соми, містить хроматин, а також одне, чи більше ядерця. В цитоплазмі випадково розташовані грубий ендоплазматичний ретикулум, мітохондрії та комплекси Гольджі (рис. 3).

^аruslan2000knk@gmail.com

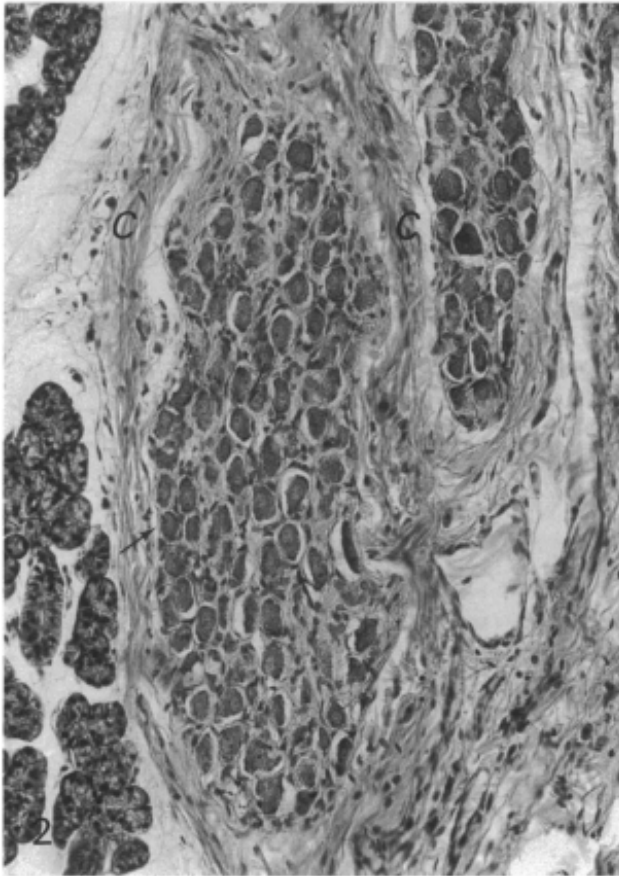


Рис. 2. Зображення великого підщелепного ганглія, який поміщений в щільну капсулу зі сполучної тканини (С). Гангліозні клітини позначені стрілками. Між гангліозними клітинами знаходяться клітини-сателіти та шванівські клітини. Збільшення $\times 194$. (Запозичено з [2])

Як показує морфометричний аналіз внутрішньозалозних клітин ганглія щурів різних вікових груп (табл. 1), загалом, всі величини збільшуються з віком, найбільше зростання в середньому поперечному перерізі, який збільшився з 105.6 мкм^2 в новонароджених до 497.8 мкм^2 у дорослих. Зростання клітинної цитоплазми відбувається швидше, ніж ядра (рис. 4).

Зміна співвідношення клітина/ядро відбувається доволі швидко в перші 2 – 3 тижні життя щура, а потім воно лишається відносно сталим. Інші показники показують ту саму схему росту. Цікаво, що кількість клітин в двох слинних залозах одного щура є схожою, а також схожою до кількості клітин в інших щурів того ж віку. Окрім того, щури всіх вікових груп мають схожий шаблон розподілу клітин в слинній залозі. Більше половини внутрішньозалозних клітин підщелепного ганглія міститься в регіоні Гілума, близько 10% міститься в інтралобулярному регіоні [3].

2. Електрофізіологічні властивості нейронів підщелепного ганглія

Для дослідження властивостей нейронів підщелепного ганглія використовують не лише виділені

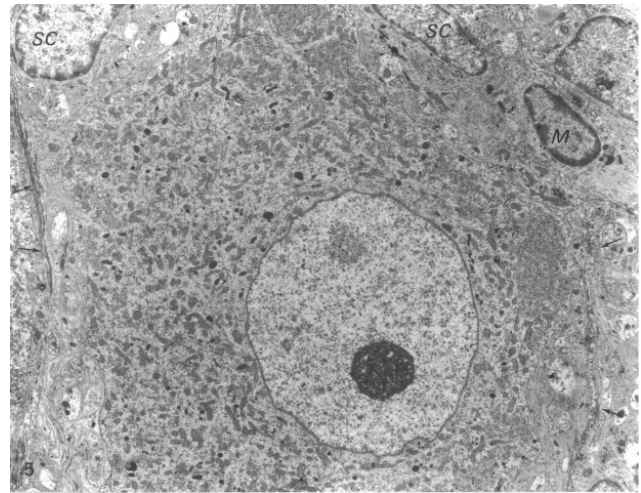


Рис. 3. Зображення нейрону підщелепного ганглія дорослого щура. SC – сателітні клітини, М – грубі хроматинові маси. Стрілочками позначено колагенові фібрили. Збільшення $\times 5625$. (Запозичено з [2])

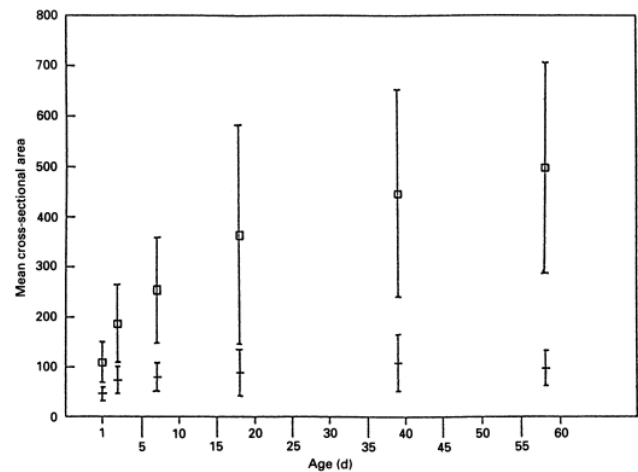


Рис. 4. Середній переріз клітини та площа ядра (в мкм^2) внутрішньозалозних клітин ганглія щурів різних вікових груп. Квадратиками позначено значення для клітин, плюсики – для ядер. (Запозичено з [3])

ганглії дорослих щурів, а і культивовані клітини ганглія, які отримуються шляхом виділення підщелепного ганглія зі щурів віком 1 – 2 дні. Далі, після відповідної обробки, культуру можна використовувати після 2 – 6 днів, хоча вона залишається живою понад 3 тижні [4].

Потенціал спокою в нейронах підщелепного ганглія має величину приблизно -55 мВ (в межах від -40 до -60 мВ). Вхідний опір культивованих клітин варіюється від 500 МОм до 3 ГОм . Такий великий розкид можна пояснити поганим з'єднанням петч-піпетки та клітини при вимірюваннях, в результаті яких вийшли низькі опори. Вхідний опір клітин підщелепного ганглія дорослих щурів варіюється від 40 до 200 МОм [5]. Нейрони містять нікотинові ацетилхолінові рецептори, тому при локальній аплікації ацетилхоліну клітина генерує струм, що спрямований всередину.

Табл. 1. Морфометричний аналіз внутрішньозалозних клітин ганглія щурів різних вікових груп. (Запозичено з [3])

Age	Mean cross-sectional cell area (μm^2)	Mean cross-sectional cell nuclear area (μm^2)	Cell/nuclear ratio	Mean cell diameter (μm)	Mean nuclear diameter (μm)	Mean cell perimeter (μm)	Mean cell circularity
Newborn	108.58±39.31	47.18±15.43	2.43±0.96	12.35±2.32	7.98±1.44	40.65±8.29	1.17±0.13
2 d	186.17±81.35	73.36±28.82	2.68±1.11	16.18±3.60	9.87±1.93	53.46±12.38	1.21±0.13
1 wk	254.18±104.09	79.15±27.50	3.40±1.46	18.88±3.99	10.27±1.79	62.78±13.99	1.21±0.12
2-3 wk	362.66±218.18	89.71±41.80	4.20±2.34	22.09±6.50	10.76±2.68	73.55±22.49	1.21±0.15
5-6 wk	446.40±204.23	108.20±58.44	4.51±1.85	25.31±8.47	11.76±2.68	82.59±19.37	1.21±0.15
Adult	497.78±207.12	98.17±36.73	5.38±2.24	26.58±5.64	11.42±2.10	88.79±19.25	1.24±0.13

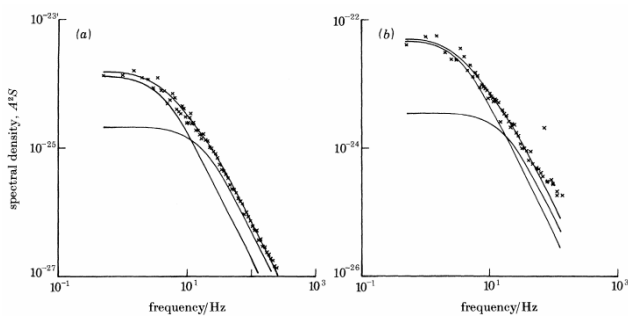


Рис. 5. ліворуч – спектр струму, спричиненого аплікацією 10 мкМ ацетилхоліну, $\tau_1 = 10.3$ мс, $\tau_2 = 41.9$ мс. праворуч – відповідь на 5 мкМ ацетилхоліну, $\tau_1 = 10.2$ мс, $\tau_2 = 50.6$ мс. (Запозичено з [4])

При впливі 10 мкМ ацетилхоліну струм в культивованих клітинах має величину 74 ± 18 пА (середнє $\pm$ середнє квадратичне відхилення, $n = 11$), в той час, як струм клітин підщелепного ганглія дорослих тварин у відповідь на аплікацію 5 мкМ ацетилхоліну 1 – 2 пА [4]. Спектральний аналіз викликаного струмового шуму показав наявність в ньому двох компонент. Спектр чудово апроксимується сумою двох Лоренціанів (рис. 5-ліворуч). Спектр струмового шуму нейронів дорослих щурів зображений на рис. 5-праворуч. Обидва спектри доволі схожі, з тією відмінністю, що амплітуда шуму в дорослому нейроні суттєво більша, ніж в культивованому нейроні. Окрім того, значення, отримані з культивованого нейрона, добре апроксимуються до 200 Гц, в той час, як для дорослого нейрона вони можуть бути апроксимовані лише до 50 Гц. Часові константи для швидкої (τ_1) та повільної (τ_2) компонент при аплікації 10 мкМ ацетилхоліну становлять 5.9 ± 1.8 мс та 41.0 ± 12.7 мс, відповідно [4].

3. Синаптична передача в підщелепному ганглії

В підщелепному ганглії дорослого щура кожна клітина ганглія зазвичай іннервується одним прегангліонним аксоном, в той час, як в новонародженого щура іннервація здійснюється, в середньому, п'ятьма прегангліонними аксонами. В дослідженні J.W. Lichtman показано наявність механізму, який забезпечує іннервацію цілої групи нейронів ганглія одним прегангліонним аксоном. Окрім того, J. W. Lichtman

показав, що цей механізм може бути реактивований в дорослих щурів, на прикладі реінервації клітин ганглія. Для цього, з дорослих щурів були видалені підщелепні ганглії, після чого прегангліонні аксони стимулювались і паралельно вимірювалась кількість окремих «кроків» (вершинок) у збуджувальному постсинаптичному потенціалі, що виникає у відповідь на ступінчасту стимуляцію прегангліонного нерва. Щоб пересвідчитись, що два нейрони іннервовані одним аксоном, вимірювання проводились одночасно із пар клітин ганглія. Нейрони можна вважати іннервованими одним прегангліонним аксоном, якщо постсинаптичні потенціали, що виникають у відповідь на стимуляцію язикового нерва, з'являються в обох нейронах при однаковій силі стимулюючого сигналу, мають однаковий латентний період з'яву та одночасно не виникають, якщо при даній силі стимулу прегангліонний аксон «спалахує» лише в половині випадків [1].

Як зазначають дослідники на чолі з J.W. Lichtman, при стимуляції язикового нерва, постсинаптична відповідь нейронів мала один «крок» в 78% нейронів, два «кроки» в 20% нейронів, а три «кроки» лише в 2% нейронів (рис. 6). Більшість нейронів, що показали кілька «кроків» у відповіді, можуть бути збудженими лише одним із іннервуючих аксонів. Таким чином можна підсумувати, що лише 2% нейронів іннервовані двома аксонами, і жоден – трьома [1].

Після народження, впродовж першого місяця розвитку відбувається поступова реорганізація іннервації підщелепного ганглія, і, приблизно за 5 тижнів, кожен нейрон підщелепного ганглія іннервується одним прегангліонним аксоном. Як зазначає J.W. Lichtman, механізм елімінації синапсів до кінця не з'ясований. Імовірно, наявна деяка конкурентна взаємодія між кількома аксонами, що іннервують кожен постсинаптичну клітину [6].

Після денервації підщелепного ганглія дорослого щура реінервується, причому схема розподілу синапсів сильно відрізняється від початкової [7]. Окрім того, реінервація може відбуватись і при лігації-делігації (перев'язуванні) слинних залоз. Зазначимо, що при зменшенні розміру слинних залоз, більша кількість парасимпатичних нейронів приєднується до секреторних ацинусів [8].

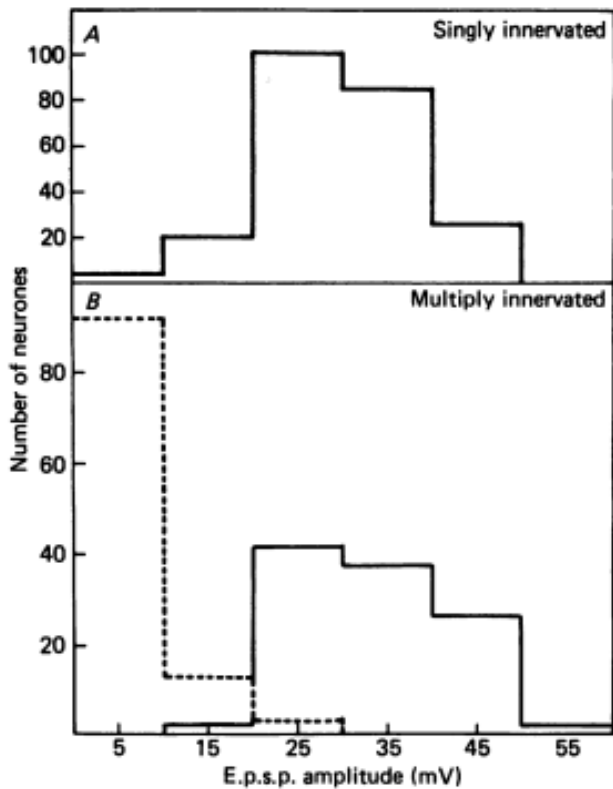


Рис. 6. Гістограми амплітуд збуджувальних постсинаптичних потенціалів. А – розподіл синаптичних потенціалів в нейронах, що одинарно іннервовані. В – розподіл синаптичних потенціалів в неодинарно іннервованих нейронах. Переривчастою лінією зображено амплітуди тих постсинаптичних потенціалів, які можуть «спалахнути» при меншій силі стимулу, ніж в іннервуючого аксону. (Запозичено з [4])

Висновки

Підщелепний ганглії щурів є зручним об'єктом для досліджень, як морфологічних, так і електрофізіологічних. Розлади в роботі слинних залоз мають запальну, бактеріальну, вірусну та інші етіології. Оскільки у хворих на цукровий діабет змінюється активність слинних залоз важливою є можливість вивчення цього захворювання в модельних експериментах на тваринах, в тому числі залучення нервової системи в патологічний процес. Для цього перш за все, важливо знати як функціонують нейрони відповідних гангліїв в нормальних умовах.

Отже, проведено літературний огляд стосовно підщелепного ганглія свавців на прикладі підщелепного ганглія щурів. При цьому, було розглянуто анатомію ганглія, будову та морфометричні особливості клітин, що його складають. Було також розглянуто електрофізіологічні властивості нейронів підщелепного ганглія, відмінності властивостей дорослого ганглія та нейронів ганглія в культурі. Окрім того, наведено особливості синаптичної передачі в підщелепному ганглії. В подальшому дослідженні, більшої уваги

заслужують також рецептори клітин підщелепного ганглія та механізми синаптичної передачі.

Підсумовуючи оглянуті публікації можна зробити такі висновки:

- 1) Нейрони гангліїв підщелепного сплетіння розташовані в тонкому шарі сполучної тканини та формують своєрідний «трикутник», сторонами якого є слинні протоки з одного боку та язиковий нерв – з іншого.
- 2) Нейрони підщелепного ганглія, між якими проходять нервові волокна та присутні невеликі шванівські клітини, розташовані в щільній капсулі зі сполучної тканини.
- 3) Потенціал спокою нейронів підщелепного ганглія знаходиться в межах від -40 мВ до -60 мВ, вхідний опір залежить від віку тварин в складає в культурі від 500 МОм до 3 ГОм, а у дорослих щурів – від 40 до 200 МОм.
- 4) Нейрони підщелепних гангліїв дорослих щурів в основному мають один прегангліонарний вхід.

Перелік використаних джерел

1. Lichtman Jeff W. On the predominantly single innervation of submandibular ganglion cells in the rat // : The Journal of Physiology. — 1980. — P. 121–130.
2. Ng Y.K., Wong W.C., Ling E.A. The intraglandular submandibular ganglion of postnatal and adult rats I. A light and electron microscope study // : Journal of Anatomy. — 1992. — P. 305–314.
3. Ng Y.K., Wong W.C., Ling E.A. The intraglandular submandibular ganglion of postnatal and adult rats. II. A morphometric and quantitative study // : Journal of Anatomy. — 1992. — P. 249–258.
4. Gray P.T., Magnus C.J. The culture of rat submandibular ganglion neurons and their macroscopic responses to acetylcholine // : Proc Roy Soc Lond B Biol Sci. — 1983. — P. 265–271.
5. Ascher P., Large W.A., Rang H.P. Studies on the mechanism of action of acetylcholine antagonists on rat parasympathetic ganglion cells // : The Journal of Physiology. — 1979. — P. 139–170.
6. Lichtman Jeff W. The reorganization of synaptic connexions in the rat submandibular ganglion during post-natal development // : The Journal of Physiology. — 1977. — P. 155–177.
7. Purves D., Lichtman J.W. Synaptic Sites on Reinnervated Nerve Cells Visualized at Two Different Times in Living Mice // : The Journal of Neuroscience. — 1987. — P. 1492–1497.
8. Altered plasticity of the parasympathetic innervation in the recovering rat submandibular gland following extensive atrophy / Carpenter G. H., Khosravani N., Ekstrom J., Osailan S. M., Paterson K. P., and Proctor G. B. // : Experimental Physiology. — 2008. — P. 213–219.