

А. Н. ГОЛУБИЦА, Л. И. КОРОЧКИН

СООТНОШЕНИЕ НЕЙРОСЕКРЕТОРНОЙ АКТИВНОСТИ И ВКЛЮЧЕНИЯ Н³-УРИДИНА В РНК НЕРВНЫХ КЛЕТОК

(Представлено академиком Б. Л. Астауровым 3 III 1970)

В ряде исследований показано, что в активно функционирующей клетке повышаются метаболические процессы, усиливается ферментативная активность, интенсифицируется синтез РНК и белка (¹⁻⁵).

Известно, в частности, что в нейросекреторных клетках выраженная цикличность их функционирования сопровождается цикличностью включения меченого Н³-уридина в РНК этих клеток. В период активного выведения нейросекрета из тела клетки синтез РНК интенсифицируется, в период накопления нейросекрета — снижается (⁶⁻⁹). Однако эти данные были получены на разных животных. В то же время отсутствуют работы, в которых одновременно определяли содержание нейросекрета и интенсивность включения Н³-уридина в РНК одной и той же клетки.

В настоящем исследовании предпринята попытка такого определения путем сочетания метода Гомори — Габе и радиоавтографии.

Для этой цели нормкам вводили интравентрикулярно однократно Н³-уридин (у.а. после разведения дистиллированной водой 1000 мС/мл) в дозах 100 мС на животное. Через 4 часа после инъекции животное декапитировали. Головной мозг фиксировали в жидкости Буэна и заливали в парафин. Срезы на уровне переднего и среднего гипоталамуса толщиной 7—8 м депарафинировали, окрашивали по Гомори — Габе, сушили на воздухе. Контрольные препараты обрабатывали рибонуклеазой.

Для изготовления радиоавтографов использовали жидкую фотоэмульсию типа М НИКФИ. Следует, однако, отметить, что при нанесении эмульсии на препараты, окрашенные паральдегид-фуксином, наблюдается взаимодействие красителя и эмульсии, — в результате эмульсия отслаивается в проявителе. Для изоляции поверхности окрашенной ткани использовали тонкие органические пленки из желатины, фармвара, коллодия. К пленкам предъявляли два требования: 1) изолировать эмульсию от поверхности среза, 2) пропускать β -частицы (у тритированных соединений β -частицы имеют небольшую энергию, 17—18 кэв, и среднюю величину пробега в среде 1 м (^{10, 11}). Лучшее всего удовлетворила этим требованиям пленка из 1% коллодия (медицинский коллодий разводили смесью спирт—эфир, 1:1), 1% коллодий, высыхая на воздухе, образует на предметном стекле пленку толщиной 50—100 Å (измерено интерферометром). Поглощение β -излучения такой пленкой оказалось практически ничтожным.

Экспонировали препараты 30 дней при 4°. Количество вновь синтезированной РНК (по включению Н³-уридина) оценивали средним числом зерен серебра в фотоэмульсии над меченой нервной клеткой супраоптического ядра. Нейросекреторную активность учитывали по балльной системе (¹²): Ia — светлые клетки, активные, выводящие нейросекрет, не содержащие в цитоплазме его гранул; Ib — клетки с небольшим количеством нейросекрета — умеренная активность; Ic — клетки, заполненные нейросекретом, — малоактивные. По каждому животному просчитано по 50—100 клеток из 2 частей супраоптического ядра (SO₁ и SO₂).

В результате проведенных анализов обнаружено статистически достоверное увеличение интенсивности включения Н³-уридина в свободные от нейросекрета клетки по сравнению с неактивными, богатыми нейросекретом клетками (табл. 1). Зависимость между интенсивностью секретообразования и включением Н³-уридина в цитоплазму и ядро клетки выражена

Таблица 1

Взаимосвязь интенсивности включения H^3 -уридина в РНК и интенсивность окраски нейросекрета в нервной клетке ядер SO_G и SO_M гипоталамуса норки

№ животного	Ядро гипоталамуса	Число клеток	Ср. число зерен серебра над нейросекреторной клеткой			P_{1a-1b}
			1a	1б	1в	
192	$\uparrow SO_M$	37	117 ± 30	112 ± 11	57 ± 14	$< 0,95$
	SO_G	78	81 ± 9	53 ± 5	35 ± 8	0,999
1402	SO_M	54	16 ± 3	13 ± 2	8 ± 1	0,95
	SO_G	95	37 ± 1	29 ± 4	18 ± 2	0,999
1780	SO_M	77	43 ± 3	52 ± 7	0	0,999
	SO_G	128	66 ± 9	48 ± 4	12 ± 2	0,999

коэффициентом корреляции Спирмена: $r_s = 0,92$ и $\rho = 0,01$ для ядра; $r_s = 0,97$ и $\rho = 0,01$ для цитоплазмы. Наряду с подсчетом числа зерен серебра над клеткой и ядром определялось отношение число зерен над цитоплазмой / число зерен над ядром (Ц/Я-отношение).

Подсчет этого отношения позволяет исключить влияние градиента распределения изотопа в мозговой ткани. Впрочем, в данном случае указанный градиент не должен существенно сказываться на результатах исследований, поскольку темные и светлые клетки распределены более или менее равномерно. При этом соседние темные и светлые клетки достаточно четко различаются по интенсивности мечения. Зависимость между Ц/Я-отношением и количеством нейросекрета в одних и тех же клетках характеризуется $r_s = 0,97$ и $\rho = 0,01$.

Как отмечалось, проведенные ранее исследования косвенно указывали на то, что периоды синтеза РНК и накопление нейросекрета в цитоплазме нейросекреторных нейронов рассогласованы во времени. Изложенные здесь данные более непосредственно показывают это на уровне отдельных нейронов. По-видимому, в «светлых» клетках осуществляется образование РНК, необходимой для синтеза нейросекрета на следующем этапе. Нужно, однако, учитывать возможные изменения проницаемости нейросекреторных клеток и, соответственно, пула предшественников РНК на разных этапах их функционирования. Как свидетельствуют некоторые косвенные данные, пул нуклеотидов в функционирующих нервных клетках не изменяется столь существенно, чтобы повлиять на степень включения H^3 -уридина в РНК (¹³). При интенсивной нагрузке нуклеотидный фонд в нейронах может возрастать (¹⁴, ¹⁵). Это должно привести к разведению меченого предшественника и к снижению, а не повышению интенсивности метки. Наконец, определяющую роль могут играть сдвиги в скорости фосфорилирования мононуклеотидов. Для окончательного решения вопроса необходимы дополнительные исследования.

Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Академии наук СССР
Новосибирск

Поступило
27 II 1970

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ J. Altmann, Nature, 199, 4895 (1963). ² В. Я. Бродский, Н. В. Нечаева, ДАН, 123, № 4, 756 (1958). ³ В. Я. Бродский, Трофика клетки, М., 1966. ⁴ X. Хиден, В кн. Функциональная морфология клетки, ИЛ, 1963. ⁵ H. Hyden, E. Egyhazi, Proc. Nat. Akad. Sci. U.S.A., 43, 1366 (1962). ⁶ J. Edstrom, D. Eichner, Zs. Zellforsch., 48, 2, 187 (1958). ⁷ Д. К. Беляев, Л. И. Корочкин и др., ДАН, 169, № 5, 1227 (1966). ⁸ B. Cymborowski, A. Dutkowski, Bull. Acad. Polon. Sci., Cl. 2, 16, 8 (1968). ⁹ B. Cymborowski, A. Dutkowski, J. Insect. Physiol., 15, 1187 (1969). ¹⁰ Н. Д. Грачева, Автордиография синтеза нуклеиновых кислот и белков в нервной системе, Л., 1968. ¹¹ О. Н. Епифанова, В. В. Терских, Метод радиоавтографии в изучении клеточных циклов, М., 1969. ¹² З. Д. Кнорре, А. Д. Поленов, В. М. Пропп, Арх. анат., 57, 7, 17 (1969). ¹³ F. Oregano, J. Neurochem., 14, 851 (1967). ¹⁴ F. Piccoli, R. Camarda, V. Banavita, J. Neurochem., 16, 2, 159 (1969). ¹⁵ K. Sikdar, J. Ghosh, J. Neurochem., 11, 7, 545 (1964).