

Е. М. ЗАМОСКОВСКИЙ, Ю. А. ДАРИНСКИЙ

**ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
МОТОНЕЙРОНОВ В УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВАЦИИ
АФФЕРЕНТНЫХ ВОЛОКОН**

(Представлено академиком В. Н. Черниговским 20 I 1970)

Длительное раздражение афферентной части соматической рефлекторной дуги электрическими импульсами высокой частоты вызывает уменьшение и исчезновение рефлекторного ответа (^{1, 2, 5, 6, 13, 14}). Рядом авторов было показано, что указанный процесс у кошки и лягушки сопровождается как гистохимическими, так и морфологическими (^{3, 4, 7}) изменениями в мотонейронах спинного мозга и в их синапсах. Нам не удалось найти в литературе данных об изменении ультраструктуры мотонейронов спинного мозга при функциональных нагрузках. Задачей данной работы было изучение функциональных и ультраструктурных особенностей мотонейронов спинного мозга наркотизированной лягушки при длительном раздражении афферентных волокон электрическими импульсами высокой частоты.

Работа выполнена на 14 лягушках (*Rana temporaria*), обездвиженных гексеналом (8 мг на 100 г веса животного). Произведено 10-минутное раздражение заднего корешка прямоугольными импульсами с частотой 50 имп/сек и отведение биопотенциалов от соответствующего переднего корешка (IX—X пары) спинного мозга. Для стимуляции применен генератор прямоугольных импульсов «Alvar». Длительность отдельного импульса составляла 0,2 мсек., сила — 3 порога. Биопотенциалы, отводимые с переднего корешка, подавались на вход усилителя «Disa Electromyograph», а затем регистрировались методом ждущей развертки с экрана катодного осциллографа С-1-16 каждые 30 сек. в течение 10 мин. раздражения. Через 10 мин. после начала раздражения соответствующий участок мозга иссекали и фиксировали.

Поставлено 2 серии экспериментов по 7 опытов в каждой.

Первая серия (контрольная). Задний корешок раздражению электрическими импульсами не подвергали. Участок спинного мозга, отпрепарированный на уровне IX—X сегментов, иссекали и фиксировали.

Вторая серия. Задний корешок раздражали электрическими импульсами с частотой 50 имп/сек в течение 10 мин. Затем соответствующий участок иссекали и фиксировали.

Исследуемые участки спинного мозга были фиксированы в 1% растворе OsO₄ или в 6,5% растворе глутаральдегида, залиты в эпон и аралдит. Ультратонкие срезы дополнительно контрастировали уранилацетатом и гидроокисью свинца по Рейнольдсу (¹⁵). Материал изучен с помощью электронного микроскопа «Hitachi HU-11B» при напряжении 75 кв. С целью точной заточки блоков на мотонейроны приготовленные толстые срезы окрашивали толуидиновым синим.

В экспериментах изучению подвергали крупные мотонейроны (диаметром 40—60 м), располагающиеся в передних рогах спинного мозга лягушки. В контрольной серии опытов на мотонейронах и их дендритах выявляется большое количество синаптических окончаний. На основании раз-

личий в строении синаптических мембран все наблюдаемые синапсы можно разделить на два типа (¹⁵, ¹⁶): I типа синапсы — на шипиках дендритов и их тонких ветвях; II типа синапсы — на толстых ветвях дендритов и телах нейронов. Величина обоих видов синапсов колеблется от 1,5 до 4,3 μ . Наши данные о структуре синапсов мотонейронов лягушки находятся в соответствии с литературными (¹⁵).

Наблюдаются некоторые различия в строении синаптической щели указанных типов синапсов. Ширина синаптической щели синапсов I типа достигает 300 Å , а у синапсов II типа 200 Å . Диаметр синаптических пузырьков в обоих типах синапсов колеблется от 300 до 500 Å ; имеются также гранулярные пузырьки большого диаметра (до 1000 Å). Синаптические пузырьки иногда занимают весь синапс или располагаются в виде отдельных скоплений (групп) в основном около активной зоны пресинаптической части синапса.

Располагающиеся в пресинаптической части овальные и округлые митохондрии не имеют определенной локализации по отношению к мембране синапса. Внутренние мембраны митохондрий имеют обычное строение, матрикс их более плотный, чем в пресинаптической терминали. В пресинаптической части синапса имеется большое количество зерен гликогена.

Митохондрии, находящиеся в соме мотонейронов (рис. 1) и дендритах, мало чем отличаются от пресинаптических и также равномерно распределены по всей массе цитоплазмы. Рибосомы образуют массовые структуры типа «розеток» — полисомы, свободно расположенные в цитоплазме, а также мембраны гранулярного эндоплазматического ретикулума, представляющие аппарат протеинового синтеза мотонейронов. Аппарат Гольджи образован плотно упакованными цистернами, пузырьками, ограниченными гладкими мембранами.

При раздражении заднего корешка спинного мозга лягушки электрическими импульсами с частотой 50 имп/сек (вторая серия) морфологическая картина мотонейронов и их синапсов отличается от нормы (рис. 2).

Происходит увеличение диаметра синаптических окончаний (иногда до 8—9 μ). Общее количество синаптических пузырьков значительно уменьшается. Появляются сходные с синаптическими пузырьками образования, имеющие большой размер и часто неправильную форму. Характерно, что в таких синапсах с уменьшенным содержанием синаптических пузырьков наблюдается снижение электронной плотности пре- и постсинаптических мембран. Эти данные согласуются с наблюдениями некоторых авторов (⁸), отметивших связь выраженности осмиофилии пре- и постсинаптических мембран с количеством прилегающих к ним везикулярных профилей. При этом часто наблюдается расширение синаптической щели синапсов обоих типов, иногда до очень значительных размеров (1000 Å), или внедрение отростков глиальных клеток в синаптическую щель. Следует отметить уменьшение или почти полное исчезновение зерен гликогена и увеличение числа нейрофиламентов.

Длительная высокочастотная стимуляция афферентных волокон вызывает значительные изменения ультраструктуры в соме и дендритах мотонейронов. Происходит нарушение энергетического аппарата: митохондрии набухают, матрикс просветляется, происходит почти полная деструкция их крист. Часть митохондрий приобретает сложную многолопастную форму. Следует отметить, что митохондрии в пресинаптической части синапса почти не отличаются от нормы.

В дендритах, особенно тонких, часть разбухших митохондрий очень плотно прилегает к постсинаптической мембране, при этом их кристы, направленные в сторону этой мембраны, большей частью не подвергаются деструкции (рис. 3). Отмечается расширение цистерн эндоплазматического ретикулума и фрагментация их мембран. Наблюдается пролиферация элементов аппарата Гольджи (в основном за счет везикулярных компонентов). Длительное раздражение задних корешков вызывает в мотонейронах рез-

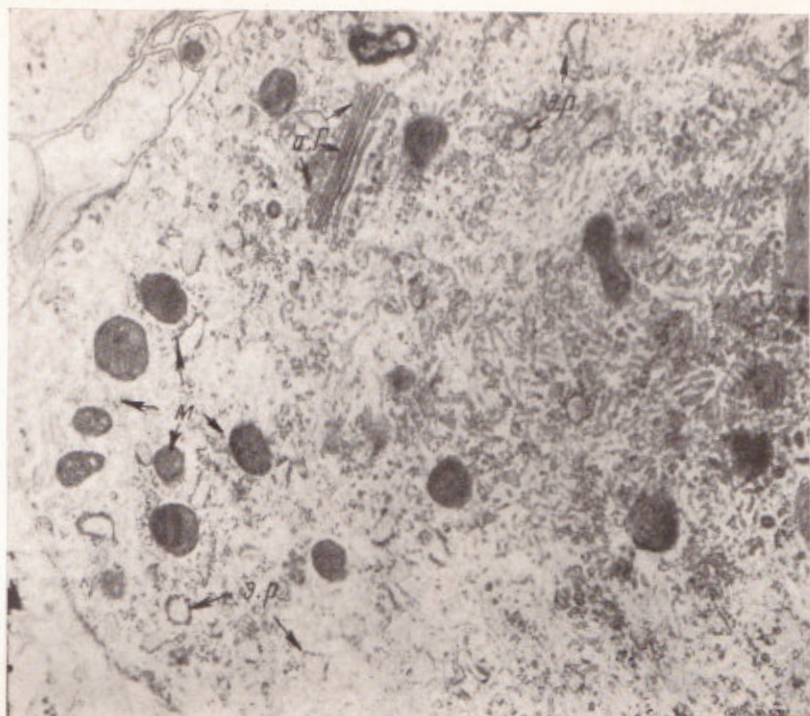


Рис. 1. Мотонейрон в норме. Обозначения на рис. 1, 2, 3: *a.G.* — аппарат Гольджи, *г* — гранулы гликогена, *м* — митохондрии, *м.в.т.* — мультивезикулярное тело, *э.р.* — эндоплазматический ретикулум, *с* — синапс, *с.п.* — синаптические пузырьки, *я* — ядро

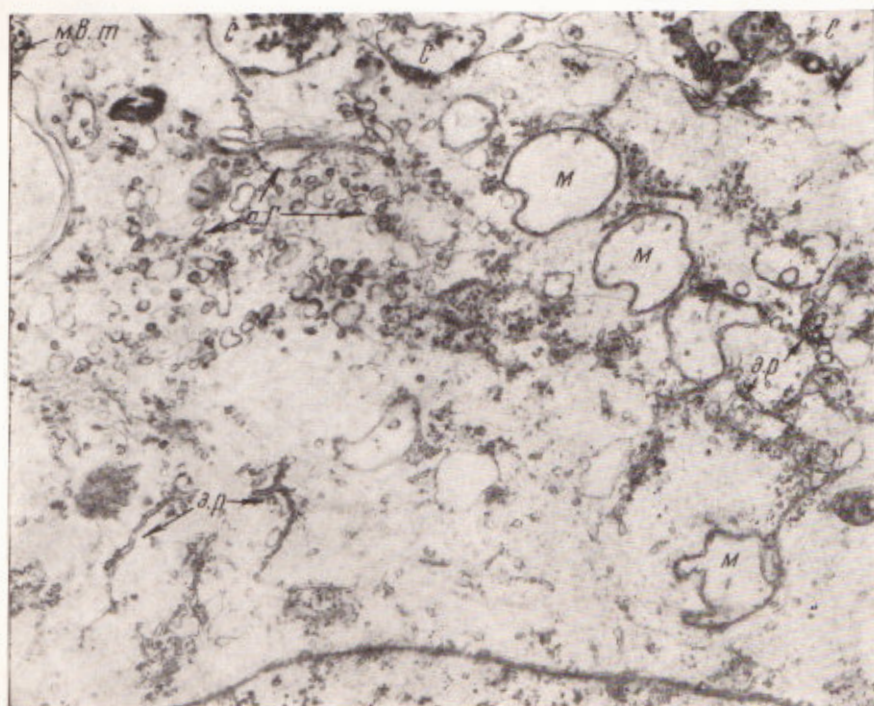


Рис. 2. Мотонейрон в условиях 10-минутного раздражения электрическими импульсами с частотой 50 имп/сек

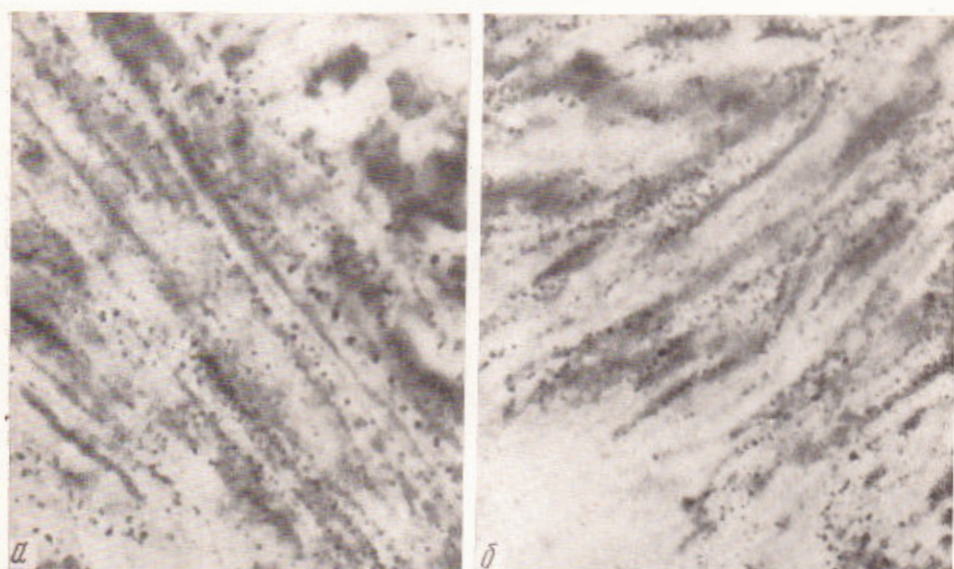


Рис. 1. Активность НАДФ-диафоразы в момент конца систолы желудочка (а) (гранулы формазана расположены свободно, много цепочек гранул формазана, в цепочке по одному-два ряда гранул) и в начале диастолы желудочка (б) (гранулы формазана мелкие, располагаются плотнее, число рядов в цепочке увеличивается, увеличение активности фермента). 1000×

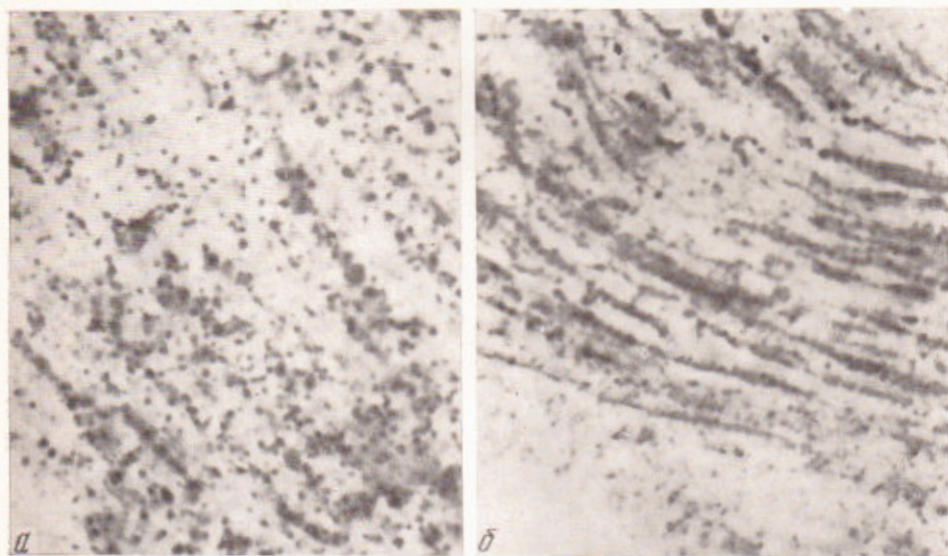


Рис. 2. Активность дегидрогеназы яблочной кислоты в начале систолы желудочка (а) (гранулы формазана крупные и лежат свободно) и в момент начала диастолы желудочка (б) (гранулы формазана располагаются плотнее, почти без интервалов, число рядов в цепочках больше, интенсивность реакции выше). 1000×

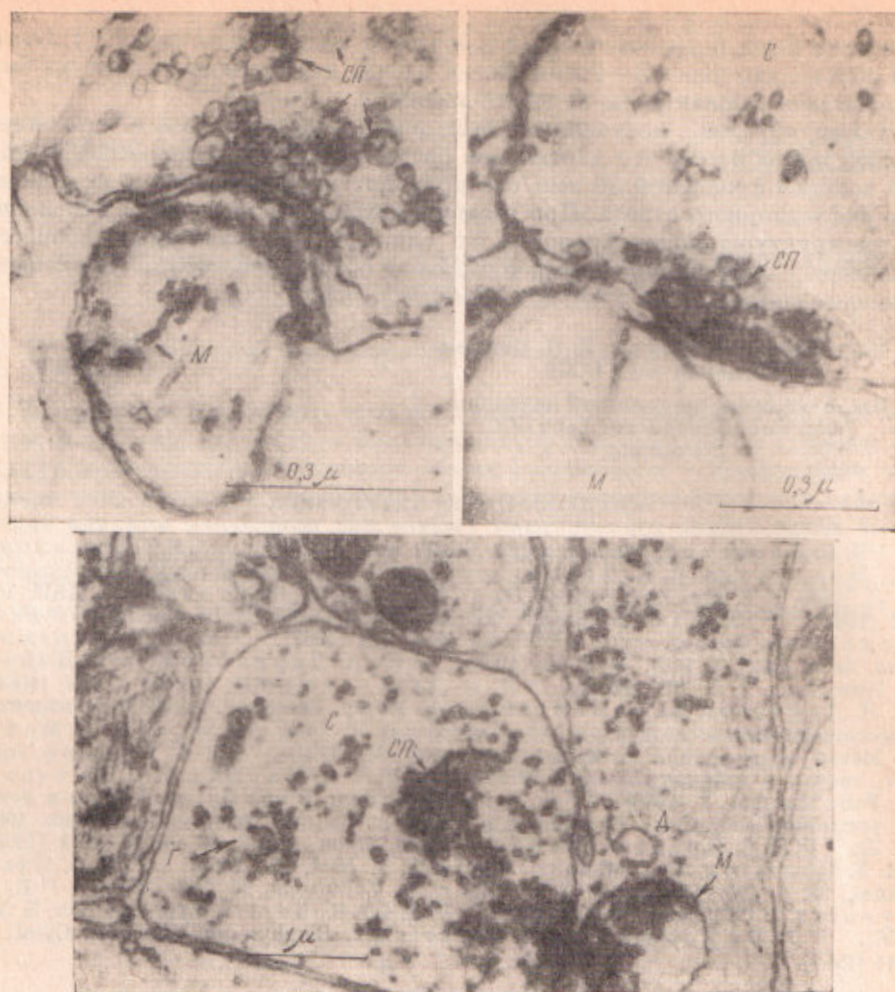


Рис. 3. Расположение митохондрий около постсинаптической мембраны аксо-дендритических синапсов после раздражения

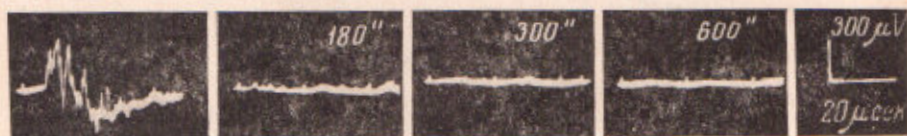


Рис. 4. Динамика изменения биопотенциалов передних корешков спинного мозга лягушки (IX—X сегменты) во время 10-минутного раздражения соответствующего заднего корешка прямоугольными электрическими импульсами с частотой 50 имп/сек

кое снижение содержания рибосом и полисом. Одновременно наблюдается увеличение числа мультивезикулярных тел и лизосом.

Аналогичные изменения ультраструктуры нейронов центральной нервной системы отмечены на других объектах рядом авторов (⁸⁻¹², ¹⁷⁻¹⁹) при различных воздействиях.

Изменения амплитуды потенциалов действия (п.д.) переднего корешка при ритмическом раздражении афферентных волокон электрическими импульсами с частотой 50 имп/сек представлены на рис. 4. Динамика изме-

нения п.д. была подробно описана в одной из предыдущих работ (6). Отметим только, что через 3—5 мин. после начала стимуляции амплитуда биопотенциалов снижается до нулевого значения.

Таким образом, полученные экспериментальные данные позволяют сделать вывод о том, что длительное ритмическое раздражение афферентных волокон с частотой 50 имп/сек приводит к уменьшению и исчезновению рефлекторного ответа. При этом происходят значительные изменения ультраструктуры мононейронов и их синапсов. Субклеточные процессы характеризуются нарушениями аппаратов энергетического и нуклеопротеинового синтеза.

Институт физиологии им. И. П. Павлова
Академии наук СССР

Поступило
15 I 1970

Институт экспериментальной медицины
Академии медицинских наук СССР
Ленинград

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ И. С. Базанова, Физиол. журн. СССР, № 1, 87 (1964). ² И. С. Базанова, О. С. Меркулова, В. Н. Черниговский, В кн.: Вопр. физиол. интерецепции, М.—Л., 1965, в. 2, стр. 20. ³ И. С. Базанова, А. С. Ионтов и др., ДАН, 155, № 2 (1964). ⁴ Ю. Я. Гейнисман, Физиол. журн. СССР, 53, № 8 (1967). ⁵ Ю. А. Даринский, Физиол. журн. СССР, 53, № 6, 675 (1967). ⁶ Ю. А. Даринский, Бюлл. эксп. биол. и мед., № 6, 10 (1968). ⁷ Ю. А. Даринский, А. В. Диденко, Цитология, 9, 6, 733 (1967). ⁸ Л. Н. Дьячкова, ДАН, 155, № 1, 227 (1964). ⁹ Л. Н. Дьячкова, Ю. Б. Мантейфель, Матер. Всесоюз. конфер. Электронно-микроскопические исследования клеток и тканей, Л., 1968, стр. 54. ¹⁰ А. А. Манина, Матер. конференции по патологии клетки, М., 1967. ¹¹ А. А. Манина, Арх. анат., гистол. и эмбриол., 52, № 3, 77 (1967). ¹² А. А. Манина, Р. П. Кучеренко, Folia Morphol., 2 (1965). ¹³ О. С. Меркулова, В кн.: Интерецепторы и нервная регуляция системных функций в норме и патологии. Иваново-Франковск, 1963, стр. 72. ¹⁴ К. С. Предтеченская, Физиол. журн., СССР, 49, № 10, 1174 (1963). ¹⁵ В. Т. Charlton, E. G. Gray, J. Cell Sci., 1, № 4, 67 (1966). ¹⁶ E. G. Gray, J. Anat., 93, 4, 420 (1959). ¹⁷ G. Merker, Zs. Zellforsch., 95, 568 (1969). ¹⁸ E. S. Reynolds, J. Cell Biol., 17, 208 (1963). ¹⁹ E. De Robertis, Exp. Cell Res., 5, 347 (1958). ²⁰ E. De Robertis, A. V. Ferreira, J. Biophys. and Biochem. Cytol., 3, 4, 611 (1957).