

Ю. Я. ГЕЙНИСМАН, В. Н. ЛАРИНА, Е. В. МАКСИМОВА, В. Н. МАЦ

**ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ РНК В СПИНАЛЬНЫХ
МОТОНЕЙРОНАХ КОШКИ ПРИ ПОСТСИНАПТИЧЕСКОМ
ТОРМОЖЕНИИ**

(Представлено академиком В. В. Париным 11 I 1971)

В ранее проведенных исследованиях ⁽¹⁾ было установлено, что содержание цитоплазматической РНК не изменяется при антидромной стимуляции спинальных мотонейронов, но уменьшается в случае ортодромного раздражения, т. е. в тех экспериментальных условиях, когда синаптическое действие выражено особенно значительно. Это позволило заключить, что причиной количественных изменений нейрональной РНК являются синаптические влияния. Однако оставалось невыясненным, какие именно синаптические влияния — возбуждающие или тормозные — вызывают сдвиги в содержании нейрональной РНК. Поэтому в настоящей работе мы попытались определить, изменяется ли уровень содержания РНК в нейронах при постсинаптическом торможении. Опыты проводили на половозрелых самках кошек. Под нембуталовым наркозом производили ламинэктомию, отпрепаровывали и перерезали передние корешки сегментов L₅ — S₁, а также афферентные нервы задних конечностей. Область продолговатого мозга обнажали над дном IV желудочка отсасыванием мозжечка. Затем кошкам делали инъекцию тубокурарина и переводили их на искусственное дыхание.

Для вызова постсинаптического торможения спинальных мотонейронов стимулировали ретикулярную формацию продолговатого мозга. Показано ⁽²⁻⁴⁾, что возникающее при этом торможение спинальных рефлекторных реакций действительно является постсинаптическим. Оно сопровождается отчетливой гиперполяризацией мембраны как флексорных, так и экстенсорных мотонейронов в пояснично-крестцовом отделе спинного мозга.

Гигантоклеточное ядро ретикулярной формации стимулировали через биполярные игольчатые электроды с межполюсным расстоянием около 200 мк прямоугольными импульсами тока длительностью 0,1—0,2 мсек. с частотой 200 в сек. Наличие и степень выраженности торможения, развивающегося в спинном мозге, оценивали по уменьшению амплитуды флексорных и экстенсорных моно- и полисинаптических рефлекторных реакций. Эти реакции регистрировали с передних корешков L₆ или L₇ после нанесения тестирующих стимулов на центральные концы афферентных нервов. Тестирующие стимулы наносили не часто, 1 раз в 10 сек., так что они не могли существенно изменить основной реакции мотонейронов на раздражение ретикулярной формации, но позволяли в течение всего опыта контролировать глубину торможения. В каждом эксперименте отыскивали такие участки гигантоклеточного ядра, раздражение которых током соответствующей интенсивности вызывало полное торможение моно- и полисинаптических ответов в ядрах флексоров и экстенсоров.

В ходе опыта глубина торможения, как правило, уменьшалась и приходилось либо увеличивать интенсивность раздражающих стимулов, либо несколько изменять положение раздражающих электродов в зоне гигантоклеточного ядра. Но и тогда полное торможение спинальных рефлектор-

ных реакций удавалось получить лишь при условии, что длительность непрерывного раздражения ретикулярной формации не превышала 10 мин. Поэтому для цитохимического обследования подопытных животных забивали внутривенным введением нембутала через 10 мин. от начала стимуляции на фоне продолжающегося раздражения гигантоклеточного ядра. Одновременно забивали контрольную кошку, у которой продельывали все те же манипуляции, что и у подопытной, за исключением стимуляции.

Контрольных и подопытных кошек подбирали попарно по одинаковому весу тела. Поясничные утолщения их спинного мозга вместе фиксировали в жидкости Карнуа и заливали в один парафиновый блок. На полученных из этого блока поперечных срезах сегментов L_5 — L_6 измеряли концен-

Т а б л и ц а 1

Клеточная структура	№ пары кошек	Число кошек		Число клеток		Среднее содержание нуклеиновых кислот (нг)		Разница, %	$P >$
		группа 1	группа 2	группа 1	группа 2	группа 1	группа 2		
Цитоплазма мотонейрона	1	1	1	30	30	1149 ± 80	1235 ± 66	7,5	0,5
	2	1	1	30	30	1764 ± 120	1629 ± 132	8,3	0,3
	3	1	1	30	30	1895 ± 114	1702 ± 148	11,3	0,7
Ядро сателлита	—	3	3	90	90	1603 ± 70	1522 ± 73	5,3	0,7
	1	1	1	32	33	3,88 ± 0,31	3,92 ± 0,23	1,0	0,9
	2	1	1	28	35	5,27 ± 0,30	4,37 ± 0,23	20,6	0,1
	3	1	1	27	18	4,81 ± 0,48	4,62 ± 0,52	4,1	0,8
	—	3	3	87	86	4,62 ± 0,22	4,25 ± 0,18	8,7	0,5

трацию нуклеиновых кислот в цитоплазме мотонейронов и ядре их сателлитов методом фотографической сканирующей цитоспектрофотометрии в у.-ф. лучах (⁵⁻⁸). Условия измерений были детально описаны ранее (^{1, 10}). Содержание нуклеиновых кислот вычисляли как произведение их концентрации (в нг/μ³) на объем клеточной структуры (в μ³). Для нахождения объема (V) измеряли наибольшую (a) и перпендикулярную ей наименьшую (b) оси эллипса, вписанного в контур клеточного тела или ядра, и полученное значение подставляли в соответствующую формулу: для мотонейронов $V_{\text{тела}} = \pi/6ab\sqrt{a^2 - b^2}$; $V_{\text{ядра}} = \pi/6ab^2$; $V_{\text{цитоплазмы}} = V_{\text{тела}} - V_{\text{ядра}}$; для сателлитов $V_{\text{ядра}} = \pi/6a^2b$. Эти формулы были выведены на основании определения формы клеточного тела и ядра по предложенному ранее способу (¹¹). Полученные данные обрабатывали статистически с помощью критерия χ^2 для сравнения двух эмпирических распределений.

В специальном предварительном исследовании цитохимический анализ содержания нуклеиновых кислот проводили у контрольных кошек, которых подбирали попарно по одинаковому весу тела. Одну кошку из каждой пары относили в группу 1, а другую — в группу 2, причем спинной мозг животных, сведенных в пару, подвергали одновременной гистологической обработке. Число измеряемых клеток и количество обследуемых животных постепенно увеличивали, чтобы добиться отсутствия статистически значимых различий в содержании нуклеиновых кислот как для всех пар кошек, так и для сравниваемых групп. Выяснилось (табл. 1), что группы контрольных кошек достоверно не отличаются по содержанию нуклеиновых кислот в цитоплазме мотонейронов и ядре сателлитов, если у каждого животного исследуется не менее 30 мотонейронов вместе с их сателлитами, а каждая группа состоит из 3 кошек.

Найденные критерии надежности контроля использовали при последующем сопоставлении контрольных и опытных данных. Это сопоставление показало, что у подопытных животных статистически существенно снижается содержание РНК в цитоплазме мотонейрона, а количество нуклеиновых кислот в ядрах сателлитов не претерпевает заметных изменений (табл. 2). Такая направленность сдвигов количества нейрональной РНК отмечалась у всех обследованных подопытных животных по сравнению с соответствующими парными контрольными кошками. Не исключено, что изменения содержания глицальной РНК возникали в более ранний период стимуляции, но нормализовались на фоне уменьшения количества нейрональной РНК, как это наблюдалось в опытах с ортодромным раздражением мотонейронов (¹⁰).

Т а б л и ц а 2

Клеточная структура	Число животных	Число клеток	Среднее содержание нуклеиновых кислот, пг	В % к контролю	P
Цитоплазма мотонейрона	$\frac{3}{3}$	$\frac{141}{140}$	$\frac{1562 \pm 61}{1315 \pm 49}$	84,2	<0,05
Ядро сателлита		$\frac{105}{129}$	$\frac{4,22 \pm 0,18}{4,15 \pm 0,18}$	98,3	>0,9

П р и м е ч а н и е. Числа над чертой — контроль, под чертой — опыт.

Приведенные фактические данные свидетельствуют о том, что постсинаптическое торможение мотонейронов сопровождается количественными изменениями нейрональной РНК. В этом смысле постсинаптическое торможение можно рассматривать как метаболически активный процесс, эффект которого реализуется, вероятно, за счет воздействия ионов или медиатора.

Обнаруженное при постсинаптическом торможении снижение содержания РНК в цитоплазме нейронов вряд ли обусловлено угнетением ее синтеза. Исходя из данных о включении меченых предшественников в цитоплазматическую РНК (¹², ¹³), легко подсчитать, что максимальная скорость синтеза этой РНК для спинального мотонейрона кошки составит 0,1—0,2 пг/мин. Даже полное угнетение синтеза цитоплазматической РНК не могло бы вызвать уменьшение ее количества в нейроне на 250 пг за 10 мин. стимуляции.

Поэтому при анализе механизма уменьшения количества нейрональной РНК следует учитывать две основных возможности: 1) усиление тока РНК по аксону и 2) возрастание распада РНК. Если содержание РНК снижается вследствие усиления ее тока по аксону, то постсинаптическое торможение нейронов в метаболическом выражении может являться процессом, способствующим увеличению синтеза белка на периферии нейрона и прежде всего в области синаптических окончаний. Если же уменьшение количества нейрональной РНК связано с деструкцией макромолекул, то постсинаптическое торможение нейронов в метаболическом отношении может быть тем процессом, который приводит к энергетически значимым превращениям нуклеотидов (⁸, ¹⁴). В настоящее время ввиду отсутствия конкретных фактов трудно отдать предпочтение какой-либо одной из указанных возможностей. Тем не менее найденная корреляция между возникновением постсинаптического торможения нейронов и количественными изменениями нейрональной РНК представля-

ется весьма обнадеживающей в плане дальнейших поисков, направленных на выяснение природы одного из основных нервных процессов.

Институт высшей нервной деятельности
и нейрофизиологии
Академии наук СССР
Москва

Поступило
5 I 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Ю. Я. Гейнисман, В. Н. Ларина, В. Н. Мац, ДАН, 192, 232 (1970).
² R. Llinas, C. A. Terzuolo, J. Neurophysiol., 27, 564 (1964). ³ K. Llinas, C. A. Terzuolo, J. Neurophysiol., 28, 413 (1965). ⁴ А. И. Шаповалов, В кн. Синаптические процессы, Киев, 1968, стр. 215. ⁵ T. Caspersson, Scand. Arch. Physiol., 73, Suppl. 8, 1 (1936). ⁶ T. Caspersson, Experientia, 11, 45 (1955).
⁷ В. Я. Бродский, Усп. совр. биол., 42, 87 (1956). ⁸ В. Я. Бродский, Трофика клетки, М., 1966. ⁹ W. Sandritter, In: Handbuch der Histochemie, 1, T. 1, Stuttgart, 1958, S. 220. ¹⁰ Ю. Я. Гейнисман, В. Н. Ларина, В. Н. Мац, Цитология, 12, 1028 (1970). ¹¹ Ю. Я. Гейнисман, В. Н. Ларина и др., В кн. Современные методы морфологических исследований мозга, М., 1969, стр. 30. ¹² B. Daneholt, S.-O. Brattgård, J. Neurochem., 13, 913 (1966). ¹³ D. M. Dawson, J. Neurochem., 14, 939 (1967). ¹⁴ P. Mandel, S. Edel-Harth, J. Neurochem., 13, 591 (1966).