

И. С. ПЕРСИНА

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ СУХОГО ВЕСА НЕЙРОНОВ ЯДРА ДЕЙТЕРСА КРЫС ПРИ СТИМУЛЯЦИИ РАЗЛИЧНОЙ ДЛИТЕЛЬНОСТИ

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

На различных объектах при разных экспериментальных условиях показаны изменения содержания белков в нейронах при их активации (¹⁻⁴). Однако в этих работах, как правило, не анализировалась динамика сдвигов в содержании белков. Зависимость изменений сухого веса клеток от длительности раздражения изучалась только на ганглиозных клетках сетчатки лягушки (⁵) и мыши (⁶). В результате этих исследований была получена воспроизводимая кинетическая кривая изменений количества нейронального белка, которая была принята за норму метаболической реакции клетки на световую стимуляцию различной длительности. Предполагается, что скорость и амплитуда этих изменений характерны для каждого изучаемого типа нейрона (⁶). Поэтому представляет интерес проследить динамику сдвигов количества белка на другом объекте. Задачей данной работы являлось изучение изменений концентрации и содержания белков в нейронах ядра Дейтерса при бинауральной поляризации лабиринтов постоянным током различной длительности.

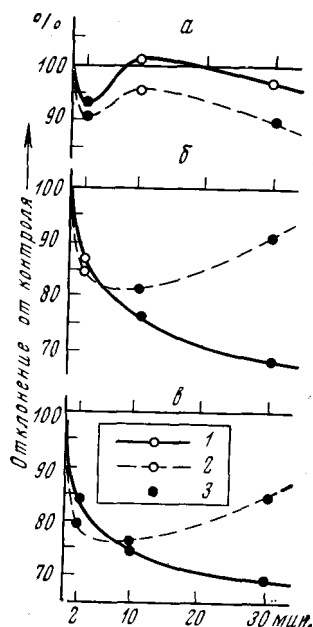


Рис. 1. Объемы (а), концентрация (б) и содержание (в) белков в ядре и цитоплазме нейронов ядра Дейтерса при стимуляции различной длительности. 1 — среднее количество белка в цитоплазме нейронов, 2 — средний сухой вес ядер клеток, 3 — статистически значимые сдвиги

Физиологическими исследованиями (^{7, 8}) установлено, что поляризация лабиринта катодом вызывает усиление активности большинства единиц ипсилатерального ядра Дейтерса и угнетение активности большей части нейронов контрлатерального ядра, тогда как анод обладает противоположным действием. При одновременной поляризации лабиринтов разнополюсными электродами эффект действия раздражителей потенцируется. В настоящей работе представлены результаты исследования нейронов ядра Дейтерса, которые активировались ипсилатеральным катодом и контрлатеральным анодом.

Крысам линии Вистар под эфирным наркозом производили перфорацию барабанной перепонки для подведения электродов к круглому отверстию. Повышение активности нейронов вызывали постоянным током силой 0,3 ма на протяжении 2, 10 и 30 мин. По окончании стимуляции подопытных и контрольных животных забивали обезглавливанием, выделяли продолговатый мозг, фиксировали его в жидкости Карнуа и заливали в парафин. На всех этапах соблюдали условия одновременной гистологической обработки опытных и контрольных тка-

ней. Серийные поперечные срезы продолговатого мозга готовили при установке микротома на 5 μ . Толщину полученных срезов измеряли в двойном микроскопе МНС-11 (⁹). Исследовали крупные и средние пейроны латерального вестибулярного ядра, у которых в плоскости среза имелось ядрышко.

Концентрацию плотных веществ, которые в фиксированной нервной клетке представлены преимущественно белками (¹⁰), определяли с помощью интерференционного микроскопа МВИН-4 с ширинг-объективом 40 $\times$ и шириной раздвоения 330 μ . Измерения проводили в монохроматическом свете с длиной волны 0,55 μ , пользуясь анализатором Сенармона. Иммерсионной средой служила вода. Расчеты проводили по формулам, приведенным в монографии В. Я. Бродского (¹⁰). Содержание плотных веществ в ядре и цитоплазме нейронов определяли как произведение концентрации на объем. Для нахождения объемов с помощью винтового окуляр-микрометра 15 $\times$ измеряли наибольший и наименьший диаметры клеточного тела и ядра. Объем рассчитывали по соответствующим формулам, полученным методом оптической реконструкции (¹¹).

Предварительно установили надежность контрольных данных (¹²), сопоставляя две группы контрольных крыс по содержанию белков в ядре и цитоплазме нейронов ядра Дейтерса. Выяснилось, что две группы контрольных животных не различаются по содержанию белков в нейронах латерального вестибулярного ядра. Когда у каждой крысы обследуется не менее 30 нейронов, а группа состоит из 5 животных. Найденное оптимальное соотношение числа клеток и животных использовалось при исследовании опытного и контрольного материала. Критерий χ^2 для сравнения двух эмпирических распре-

Таблица 1
Объемы, концентрации и содержание белков в нейронах ядра Дейтерса при стимуляции различной длительности

	Длительность стимуляции	Число измеренных клеток	Ядро			Цитоплазма		
			объем, μ^3	концентрация, $\mu\text{г}/\mu^3$	содержание, $\mu\text{г}$	объем, μ^3	концентрация, $\mu\text{г}/\mu^3$	содержание, $\mu\text{г}$
Контроль	—	313	988 $\pm$ 29	0,437 $\pm$ 0,007	423 $\pm$ 14	10484 $\pm$ 331	0,545 $\pm$ 0,006	5501 $\pm$ 173
Опыт	1 мин.	150	852 $\pm$ 33	0,398 $\pm$ 0,009	337 $\pm$ 14	9185 $\pm$ 416	0,507 $\pm$ 0,009	4571 $\pm$ 208
Разница в %			13,6	8,7	20,1	12,4	7,0	16,9
Значимость различия ($P < $)			0,10	0,005	0,005	0,25	0,01	0,01
Контроль	—	313	988 $\pm$ 29	0,437 $\pm$ 0,007	423 $\pm$ 14	10484 $\pm$ 331	0,545 $\pm$ 0,006	5501 $\pm$ 173
Опыт	10 мин.	162	800 $\pm$ 32	0,417 $\pm$ 0,010	323 $\pm$ 15	8048 $\pm$ 354	0,549 $\pm$ 0,009	4175 $\pm$ 161
Разница в %			18,9	4,4	23,6	23,2	0,7	24,1
Значимость различия ($P < $)			0,005	0,25	0,005	0,005	0,75	0,005
Контроль	—	313	988 $\pm$ 29	0,437 $\pm$ 0,007	423 $\pm$ 14	10484 $\pm$ 331	0,545 $\pm$ 0,006	5501 $\pm$ 173
Опыт	30 мин.	151	895 $\pm$ 43	0,392 $\pm$ 0,009	354 $\pm$ 21	7428 $\pm$ 306	0,531 $\pm$ 0,009	3912 $\pm$ 192
Разница в %			9,2	10,1	16,1	29,1	2,6	28,9
Значимость различия ($P < $)			0,025	0,025	0,005	0,005	0,25	0,005

делений служил мерой сходства или различия опытных и контрольных данных.

Результаты работы представлены в табл. 1. Обнаружено, что повышение функциональной активности нейронов ядра Дейтерса приводит к статистически достоверному снижению содержания белков в цитоплазме клеток на всех сроках стимуляции. Анализ кривой изменения сухого веса (рис. 1) показывает, что снижение его пропорционально длительности воздействия. Изучение динамики сдвигов количества белка в ганглиозных клетках сетчатки (⁵, ⁶) позволило получить качественную иную кривую. Очевидно, характер данной метаболической реакции зависит от типа нейрона. Для объяснения последовательного снижения содержания белков в цитоплазме нейронов при увеличении длительности стимуляции (учитывая большую скорость изменений) можно предположить следующее: 1) ускорение распада белков; 2) увеличение скорости транспорта белков по аксону. Повышение активности протеолитических ферментов, зарегистрированное в седалищном нерве крыс при увеличении мышечной нагрузки (⁴), свидетельствует в пользу первого предположения. Данные о значительном ускорении тока аксоплазмы при электростимуляции нерва улитки (¹³) делают вероятной и вторую возможность.

Сравнение динамики изменений объема цитоплазмы и содержания плотных веществ в ней показывает не только одинаковую направленность сдвигов, но и почти полное количественное их совпадение. Это позволяет сделать вывод о том, что уменьшение объема цитоплазмы обусловлено снижением количества плотных веществ в ней, а не изменением ионного баланса и связанными с ним процессами дегидратации.

Динамика изменений этих показателей в ядре нейрона выявляет другую зависимость. Объем ядра и содержание белка в нем снижаются в первые моменты стимуляции, но уже после 10-минутной активации нейронов начинается восстановление этих параметров (рис. 1). Это соответствует представлению о том, что клеточное ядро принимает прямое участие в восстановлении цитоплазмы нейрона, в том числе и аксональных его белков, и что ядерный синтез белка предшествует усилению цитоплазматических синтезов (¹⁰).

В заключение следует отметить, что проведенное исследование продемонстрировало высокую скорость изменения количества белков в ядре и цитоплазме нейронов при их стимуляции и зависимость между выраженностью цитохимических сдвигов и длительностью раздражения.

Институт высшей нервной деятельности
и нейрофизиологии
Академии наук СССР
Москва

Поступило
1 III 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ H. Hyden, A. Pigon, J. Neurochem., 6, 57 (1960). ² G. Gomitato, J. Neuropathol. Exp. Neurol., 13, 359 (1954). ³ Л. З. Певзнер, Цитология, 7, 2, 253 (1965). ⁴ B. Jakoubek, E. Gutmann, In: Macromolecules and the Function of the Neuron, Amsterdam, 1968. ⁵ В. Я. Бродский, Цитология, 3, 3, 312 (1961). ⁶ В. Р. Бродский, А. М. Арефьева, Цитология, 10, 3, 329 (1968). ⁷ R. V. de Vito, A. Brusa, A. Arduini, J. Neurophysiol., 19, 241 (1956). ⁸ Г. И. Горгиладзе, ДАН, 185, № 5, 1182 (1969). ⁹ Л. С. Агроскин, В. Я. Бродский и др., Цитология, 2, 3, 337 (1960). ¹⁰ В. Я. Бродский, Трофика клетки, М., 1966. ¹¹ И. С. Персина, ДАН, 190, № 3, 699 (1970). ¹² Ю. Я. Гейнисман, В. Н. Ларина, В. Н. Мад, Цитология, 12, 8, 1028 (1970). ¹³ G. A. Kerkut, A. Shapiro, R. J. Walker, Comp. Biochem. Physiol., 23, 3, 729 (1967).