

УДК 611-018.82-019-086:612.015.348

ФИЗИОЛОГИЯ

В. Н. ЯРЫГИН, Б. В. ИОНОВ

**АВТОРАДИОГРАФИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СИНТЕЗА БЕЛКА
В ПЕРИКАРИОНАХ И МИГРАЦИИ ЕГО В АКСОНЫ
ГИПЕРТРОФИРОВАННЫХ СИМПАТИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ**

(Представлено академиком М. Н. Ливановым 12 VI 1972)

Транспортная система, локализуемая в отростках нервных клеток, наряду с биосинтетическим аппаратом перикариона и синапсами, относится к категории базисных механизмов нейрона, лежащих в основе специфической функции нервной системы (¹).

В настоящее время выяснены лишь самые общие стороны работы указанной системы: примерный перечень мигрирующих химических соединений и структур (²⁻⁵), ориентировочные скорости перемещения различных компонентов аксоплазмы (⁶). Получены результаты, указывающие на изменение некоторых параметров транспортной системы отростков в зависимости от функционального состояния и стадии развития нейрона (⁷⁻⁹). В задачу данного исследования входило сравнение транспортных возможностей аксонов гипертрофированных и имеющих нормальные размеры нервных клеток верхнего шейного симпатического ганглия мыши.

Гипертрофию тел нейронов вызывали введением в организм животных фактора роста нервов (ф.р.н.) (¹⁰). Последний (в работе использован препарат ф.р.н. производства «The Wellcome Res. Lab.», Beckenham, England) инъецировали подкожно ежедневно в течение 7 суток в дозе 300 биологических единиц на 1 г веса каждые сутки (вес мышей $22 \pm 2,0$ г). Контрольным мышам вводили физиологический раствор.

Представление о степени гипертрофического действия ф.р.н. при использованном режиме введения может быть составлено на основании результатов, полученных нами для клеток звездчатых узлов взрослых мышей (¹¹). Так как гипертрофический эффект фактора проявляется в одинаковой мере в отношении симпатических нейронов всех шейных и верхних грудных ганглиев пограничной цепочки (¹²), мы сочли возможным использовать указанные результаты в качестве ориентиров при выборе сроков введения животным меченной аминокислоты.

Для суждения о состоянии транспортной системы аксонов использовали модель, разработанную для верхнего шейного ганглия (¹³⁻¹⁴), принципиальная схема которой приведена на рис. 1.

Так как основным местом синтеза белка в нейроне является перикарион (3), то через 1 час после введения H^3 -аминокислота успеет включиться лишь в белки тел нервных клеток. Интенсивность мечения как преганглионарных (1), так и постганглионарных (2) волокон в этом случае невелика. 10 час. достаточно большой срок, чтобы часть вновь синтезированного белка мигрировала в аксоны, что может вызвать некоторое понижение интенсивности мечения тел нейронов и приведет к обязательному повышению уровня мечения постганглионарных волокон. Особенностью верхнего шейного узла является то, что лишь незначительная часть постганглионарных волокон покидает узел через нерв, по которому в ганглий проникает основная масса преганглионарных волокон. Поэтому интенсивность мечения последних через 10 час. после введения предшественника практически не изменится. По (¹³), адекватным критерием характера изменений в интенсивности мечения различных структур верхне-

го шейного ганглия, отражающих соотношение синтеза и транспорта, является отношение интенсивности мечения препостганглионарных волокон к интенсивности мечения перикарионов (I/I_1).

Цифровое значение указанного отношения зависит от уровня мечения как соответствующей категории отростков, так и перикарионов. Посколь-

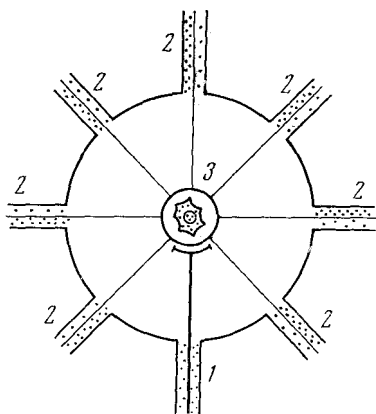


Рис. 1. Схема, иллюстрирующая использование верхнего шейного симпатического ганглия мыши для автордиографического исследования миграции белка из перикарионов в аксоны нервных клеток. Различное число точек над участками постганглионарных нервов (2) отражает разную интенсивность автографа через 1 и 10 час. после инъекции H^3 -аминокислоты

ку 10-часовой срок характеризуется по сравнению с 1-часовым большей интенсивностью мечения постганглионарных волокон и меньшей интенсивностью мечения тел нейронов, то в целом величина отношения для этих отростков повысится. Фиксируемое в данном случае изменение обуславливается переходом части меченого материала из перикарионов в постганглионарные волокна. Очевидно, что в такой ситуации величина прироста должна быть пропорциональна количеству уходящего в отростки вещества и может служить критерием интенсивности миграции. Уровень мечения преганглионарных волокон, определенный через 10 час. после инъекции аминокислоты, должен отличаться от 1-часового уровня незначительно, в связи с чем и величина отношения интенсивности мечения преганглионарных волокон и перикарионов практически не изменяется.

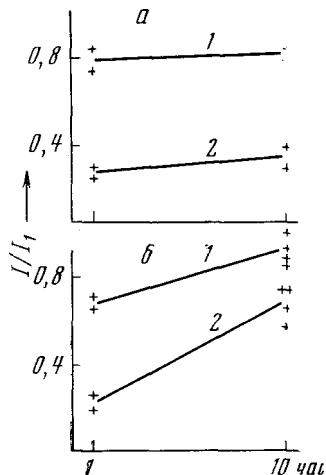
В рамках описываемого опыта двум контрольным животным и двум мышам, взятым через 3 суток после окончания цикла из 7 ежедневных инъекций ф.р.н., внутривенно в одной инъекции вводили H^3 -лизин (удельная активность 340 мС/ммоль) в дозе 6,8 мС на 1 г веса. Забивали по одной из опытных и контрольных мышей через 1 и 10 час. после инъекции аминокислоты. Верхние шейные симпатические узлы с начальными участками отходящих от них нервов извлекали под стереомикроскопом. Серийные срезы толщиной 8 м после депарафинирования покрывали жидкой эмульсией типа М и экспонировали в темноте при 4° в течение 13 суток. Техника приготовления автографов была обычной. После проявления срезы докрашивали смесью метилового зеленого-пиронина. Из серии срезов каждого ганглия выбирали по 4, включающие зону отхождения преганглионарных или постганглионарных волокон, в пределах которых проводили подсчет числа зерен серебра на единицу площади (малый квадрат окулярной сетки), занимаемой нервными клетками или волокнами (площадь, занимаемая ядрами глиоцитов, исключалась). Полученные данные использовали для вычисления отношения интенсивности мечения отростков и тел нейронов.

Визуальный анализ препаратов исследуемых ганглиев опытных и контрольных мышей приводит к заключению, что популяция нервных клеток из узлов получавших ф.р.н. животных представлена более крупными клетками.

Оценку интенсивности белкового синтеза в телах сравниваемых нервных клеток проводили, исходя из данных о концентрации зерен серебра, определяемой над перикарионами. Для унификации сопоставляемых результатов в качестве критерия уровня мечения сомы нейронов брали не абсолютные цифры, а величину отношения концентрации метки над перикарионами к концентрации над преганглионарами. Чтобы избежать ошибок, связанных с колебаниями фоновой активности, указанное отношение рассчитывали для каждого гистологического препарата отдельно.

Проведенные ранее на нейронах звездчатых узлов взрослых мышей интерферометрические исследования показали, что вызываемая ф.р.н. гипертрофия перикарионов обусловлена в основном увеличением количества цитоплазмы, а не изменением концентрации плотных веществ в ней, что дает основание не вводить в результаты счета зерен серебра в опыте и контроле поправок, корректирующих эффект самопоглощения β -частиц объектом (¹⁵). Полученные данные свидетельствуют о том, что оцениваемая по указанному показателю интенсивность мечения тел нервных клеток опытных мышей через 1 час после введения изотопа в Zr , а через

Рис. 2. Динамика величины отношения интенсивности мечения преганглионарных (а) или постганглионарных (б) нервных волокон к интенсивности мечения перикарионов нейронов верхних шейных симпатических узлов мышей: контрольных (1) и получивших ф.р.н. (2). Каждая точка для преганглионарных волокон — величина указанного отношения, рассчитанная для одного ганглия; каждая точка для постганглионарных волокон — величина отношения, рассчитанная для одного постганглионарного нерва



10 час. после инъекции в 2,4 раза выше, чем в контроле. Приведенные соотношения, таким образом, говорят о большей белоксинтезирующей активности гипертрофированных нейронов. Реальность указанного вывода следует из того, что полученные результаты нельзя объяснить изменением пула предшественника, поскольку ф.р.н. не оказывает влияния на поступление в структуры симпатических узлов аминокислот основного характера (¹⁶), к которым относится, в частности, лизин. С другой стороны, установленное нами повышение темпов миграции белка в аксоны гипертрофированных нейронов делает невозможным объяснение найденных фактов за счет задержки меченых протеинов в телах клеток.

Величины отношений интенсивности мечения пре- и постганглионарных волокон и перикарионов, рассчитанные для 1 часа после инъекции предшественника, представлены на рис. 2. Обращает на себя внимание то, что абсолютные значения отношений для узлов опытных животных значительно ниже, чем для ганглиев контрольных мышей. Последнее находит свое объяснение в том, что интенсивность мечения тел нейронов в опыте гораздо выше. Через 10 час. после инъекции радиолизина отношение уровней мечения преганглионарных волокон и тел клеток и в опыте, и в контроле практически не меняется (рис. 2а). Аналогичное отношение, рассчитанное для постганглионарных волокон, в обоих случаях через 10 час. выше, чем через 1 час после введения аминокислоты (рис. 2б), что свидетельствует в пользу существования тока белка из тел нервных клеток в аксоны как у контрольных, так и у опытных мышей.

Выше отмечалось, что в рамках используемой экспериментальной модели критерием интенсивности процесса миграции может служить величина прироста абсолютного значения отношения концентрации метки над постганглионарными волокнами и перикарионами, рассчитанного для 10 час., по сравнению с абсолютным значением отношения, вычисленного для 1 часа. Нетрудно заметить, что величина интересующего нас прироста, наблюдаемая в симпатических узлах опытных мышей, примерно в 2 раза выше (рис. 2б). Последнее дает основание считать,

что интенсивность перемещения меченного по H^3 -лизину белка в ганглиях получавших ф.р.н. животных также существенно выше.

Наши данные свидетельствуют о более активном синтезе белка в клетках опытных мышей. Указанный результат не связан непосредственно с действием самого фактора роста, специфический эффект которого проявляется лишь в его присутствии (¹⁴, ²⁰). Так как мы исследовали симпатические нейроны через 3 суток после отмены препарата, отмеченный усиленный синтез, по всей видимости, отражает одну из метаболических особенностей гипертрофированных нервных клеток.

Повышение темпов миграции белка в аксоны таких нейронов указывает на то, что существенная часть вновь образуемого белка необходима для обеспечения структурно-функциональных характеристик длинного отростка и (или) нервных окончаний.

Приводимые результаты, свидетельствуя об усилении процессов миграции белка в аксоны гипертрофированных клеток, не дают ответа на вопрос, обусловлена ли эта интенсификация ростом скорости перемещения соответствующих компонентов, как это показано, например, для нейронов, регенерирующих свои отростки (⁷). Аналогичный эффект может быть достигнут, в частности, за счет увеличения пропускной способности каждого аксона в связи с увеличением его диаметра.

Возникает вопрос, какие категории белков гипертрофированных симпатических нейронов приобретают способность перемещаться в аксоны более интенсивно. Ответить на этот вопрос окончательно в настоящее время не представляется возможным. Очевидно, однако, что они относятся к быстрообменивающимся, по классификации Дроза (²), протеинам.

Феномену роста специфических клеточных элементов нервной ткани уделяется большое внимание при обсуждении цитологических аспектов механизмов, обеспечивающих нормальную работу нервной аппаратуры (¹⁷). Указанный процесс лежит в основе превращения нейробласта в зрелый нейрон, обеспечивает регенерацию поврежденного отростка, делает возможным функционально-приспособительную и компенсаторную перестройку иннервационных отношений (¹⁸, ¹⁹). Одним из морфологических выражений интенсификации роста является гипертрофия перикарионов ганглиозных клеток. Созданная на основе фактора роста нервов экспериментальная модель гипертрофии является адекватной (¹¹) и позволяет осуществить планомерное исследование этого распространенного и важного для физиологии нервной аппаратуры состояния нервных клеток.

Второй Московский государственный медицинский институт им. Н. И. Пирогова

Поступило
15 V 1972

Институт биологии развития
Академии наук СССР
Москва

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ F. O. Schmitt, In: Cellular Dynamics of the Neuron, N. Y., 1969, p. 95.
² B. Droz, In: The Use of Radioautography in Investigating of Protein Synthesis, N. Y.—London, 1965, p. 159. ³ A. Dahlström, J. Anat., 99, 4, 677 (1965). ⁴ S. Talandi, U. Attila, Life Sci., 11, 2, Part. 1, 49 (1972). ⁵ J. Zelená, E. Gutmann, In: Macromolecules and the Function of the Neuron, Amsterdam, 1968, p. 156. ⁶ А. Н. Мезенцев, О. В. Мессинава, Усп. совр. биол., 72, 1(4), 62 (1971). ⁷ B. Grafstein, Acta neuropath. (Berl.), Suppl. 5, 144 (1971). ⁸ A. Norström, J. Sjöstrand, J. Neurochem., 18, 11, 2047 (1971). ⁹ A. Hendrickson, W. M. Cowan, Exp. Neurol., 30, 3, 403 (1971). ¹⁰ R. Levi-Montalcini, P. U. Angeletti, In: Growth of the Nervous System, London, 1968, p. 126. ¹¹ В. Н. Ярыгин, И. М. Родюнов и др., Цитология, 14, 4, 472 (1972). ¹² E. Bueker, I. Schenkein, Ann. N. Y. Acad. Sci., 118, 3, 483 (1964). ¹³ J. Verne, B. Droz, Experimentia, 16, 2, 77 (1960). ¹⁴ В. Н. Ярыгин, Арх. анат., гистол. и эмбриол., 61, 10, 30 (1971). ¹⁵ W. Maurer, E. Primbsch, Exp. Cell Res., 33, 1—2, 8 (1964). ¹⁶ G. Levi, M. G. Lattes, Brain Res., 13, 3, 579 (1969). ¹⁷ J. Szentágothai, In: Growth of the Nervous System, London, 1968, p. 3. ¹⁸ В. Я. Бродский, Трофика клетки, М., 1966. ¹⁹ В. Н. Ярыгин, В кн.: Реактивные и регенераторные процессы в нервной системе. Тбилиси, 1971, стр. 227. ²⁰ S. Cohen, R. Levi-Montalcini, Cancer Res., 17, 1, 15 (1957).