

Д. Н. ЛЕНКОВ, Т. А. АГАДЖАНОВА, С. Г. МАЛОШЕВСКИЙ
**РАЗМЕРЫ СИНАПТИЧЕСКИХ ВЕЗИКУЛ В АКСОННЫХ
ТЕРМИНАЛЯХ СЕНСОМОТОРНОЙ КОРЫ КОШКИ**

(Представлено академиком Е. М. Крепсом 1 II 1974)

Результаты значительного числа исследований показали возможность дифференцировать разные категории аксонных терминалей (а.т.) по форме синаптических везикул (с.в.), содержащихся в них (¹⁻⁸). Этому способствует эффект вытягивания с.в. в определенных категориях а.т. при альдегидной фиксации нервной ткани и промывке в гипертонической среде (^{3, 4}). Однако в этих условиях удается выделить не более двух-трех разновидностей а.т. (^{1, 2, 5-8}), в то время как остальные а.т. остаются неидентифицированными.

В некоторых работах для дифференцирования различных категорий а.т. успешно использовали измерения размеров (диаметра) с.в. (^{3, 9-11}), что позволило идентифицировать до четырех-пяти соответствующих разновидностей а.т. (^{3, 11}). В связи с интенсивным исследованием нейронной и синаптической организации сенсомоторной коры (^{7, 8, 12-14}) представляет интерес проанализировать степень разнообразия а.т. в ней, используя в качестве характеристического параметра диаметр с.в.

Анализ проводили на материале, взятом из поля 4 (латеральная часть перикруциатной области) коры взрослых кошек, оперированных под нембуталовым наркозом. После перфузирования через аорту смесью 2% параформальдегида с 0,5% глутаральдегидом на фосфатном буфере при рН 7,4 (¹⁵) иссекали кусочки коры и фиксировали в 2% OsO₄ на фосфатном буфере при рН 7,4. После контрастирования уранил-ацетатом и обезвоживания в спиртах восходящей концентрации материал заключали в эпон-812. Ультратонкие срезы, приготовленные на микротоме LKB и окрашенные цитратом свинца, просматривали в электронном микроскопе «Hitachi» 11-Е и электронные микрофотографии получали при увеличении в 15 000 и 19 000 раз.

Применявшийся нами метод количественного анализа материала основан на статистике крайних (максимальных) членов вариационного ряда (¹⁶), построенного по значениям диаметров с.в. на срезе а.т. К числу преимуществ такого подхода по сравнению с обычной методикой, требующей тотального измерения диаметров с.в. в каждой а.т. (⁹⁻¹¹), помимо существенного уменьшения объема вычислений следует отнести также повышение точности расчетов. Последнее связано с тем, что размеры срединных и малых профилей с.в. на срезе а.т. в эти расчеты не входят.

Параметр, по которому строили гистограммы распределений а.т., мы называем «значущим максимальным диаметром» профилей с.в. на срезе а.т. При определении значения этого параметра для каждой а.т. поступали следующим образом. С помощью фотоувеличителя «Беларусь-2» доводили увеличение негативных изображений до 104 000 раз, после чего вычерчивали контурные карты («тенеграммы») мембран ультраструктурных компонентов а.т. В каждой а.т. визуальным образом отбирали 10-12 наиболее крупных с.в., размеры которых (размер с.в. определялся как полусумма двух ее взаимно перпендикулярных диаметров) измеряли с помощью миллиметровой линейки. В результате этих первичных измерений в каж-

дой а.т. выделяли 2—4 с.в. наибольшего размера. С помощью микроскопа МБС-2 с окуляр-микрометром при конечном увеличении 1 млн раз получали уточненные значения размеров выделенных с.в. Эти значения для каждой а.т. записывали в виде вариационного ряда в порядке убывания. Величина первого члена вариационного ряда принималась в качестве конечного «значащего максимального диаметра» с.в. Если же она превышала более чем на 10% величину следующего члена вариационного ряда (это имело место в 13 из 117 обследованных а.т.), «значащий максималь-

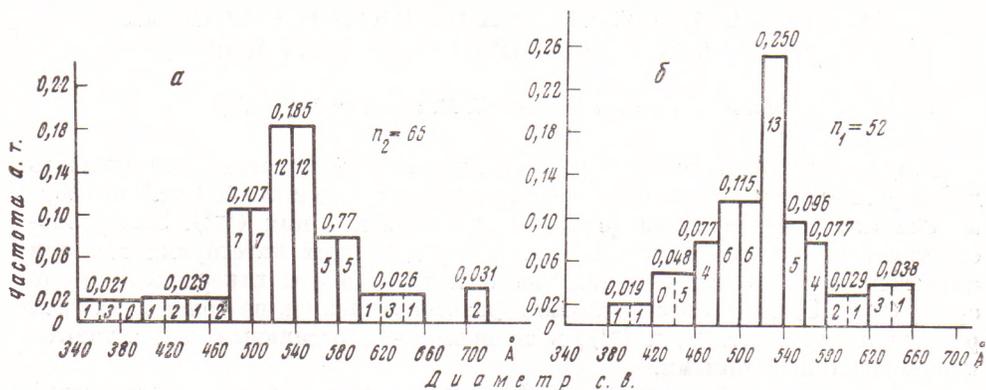


Рис. 2. Гистограммы распределений аксонных терминалей на ветвях дендритов (а) и дендритных шипиках (б) по значащему максимальному диаметру синаптических везикул. Числа внутри прямоугольников обозначают количество наблюдений, числа сверху — значения частот. Пунктир показывает, что соответствующие соседние интервалы объединены

ный диаметр» полагали равным второму члену ряда. Значение параметра выражали в ангстремах. При этом величина абсолютной ошибки не превышала 10 Å, а относительной 3%.

Представлялось существенным сопоставить разнообразие а.т., образующих синаптические контакты, с различными участками мембраны кортикальных нейронов. Ввиду малочисленности в обследованном материале а.т., контактирующих с соматической мембраной, в данной работе мы ограничиваемся анализом а.т., локализованных на ветвях дендритов (рис. 1, 2а) и на дендритных шипиках (рис. 1, 2б), идентифицированных по строгим ультраструктурным критериям (17).

Анализ гистограмм рис. 2а, б показывает (было проверено с помощью критерия χ^2 при 10% уровне значимости), что обоим распределениям свойственно принципиальное сходство. В каждой из двух рассмотренных популяций а.т. можно выделить несколько групп а.т. Среди них наиболее выражены модальные группы а.т., для которых максимальные размеры с.в. заключены, соответственно, в пределах 520—540 Å (а.т. на шипиках) и 520—560 Å (а.т. на ветвях дендритов). По-видимому, именно эти группы а.т. принадлежат аксонам, наиболее широко представленным в двигательной коре кошки. Модальными и непосредственно примыкающими к ним группами а.т. в пределах 480—580 Å исчерпывается основная часть (около 70%) обеих популяций а.т. Наложение модальных интервалов значений параметра для популяций а.т. на шипиках и дендритах может свидетельствовать о наличии на этих субстратах синаптических входов единой природы. В то же время очевидные особенности (более четко выраженный модальный интервал, меньшая широта распределения и т. п.) гистограмм рис. 2б, по сравнению с гистограммой рис. 2а, вполне объяснимы за счет большего разнообразия а.т., контактирующих с дендритами. Это, в свою очередь, может указывать на существование каких-то «дополнительных» синаптических входов на ветвях дендритов, отсутствующих или слабо представленных на шипиках.

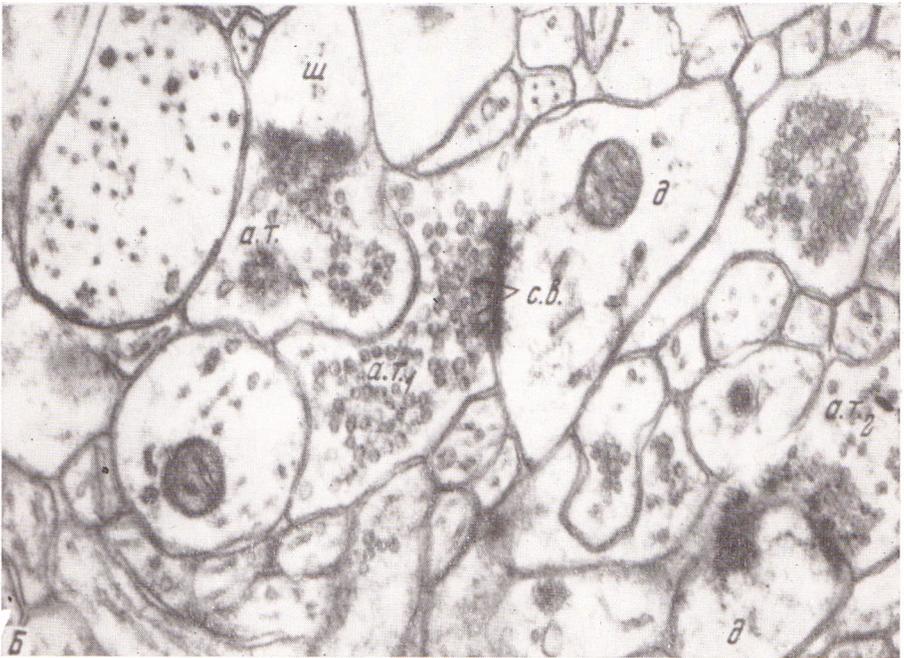
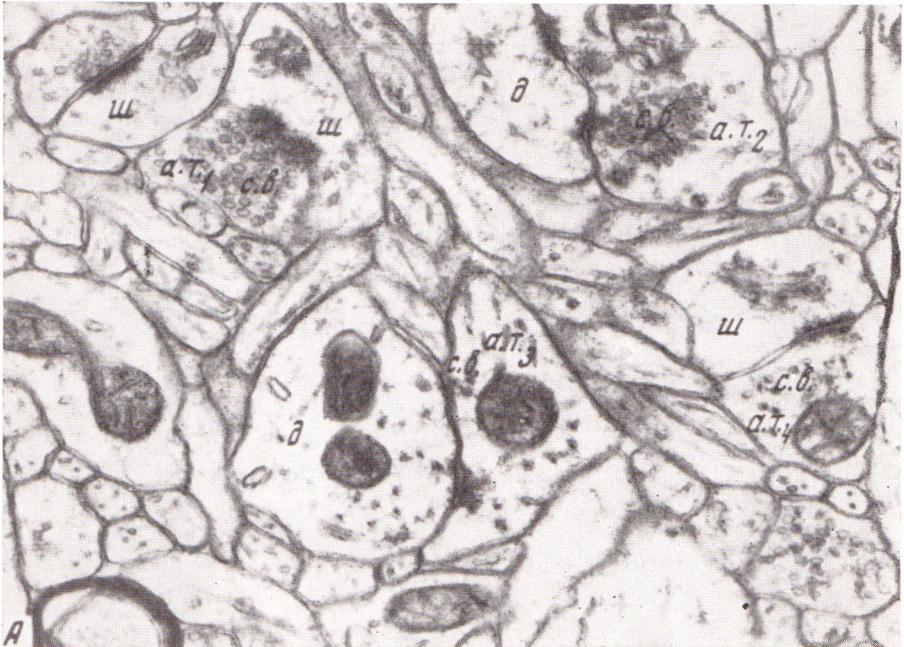


Рис. 1. Аксонные терминалы (а.т.) на ветвях дендритов (д) и дендритных шипиках (ш) в поле 4 сенсорной коры кошки. А — синаптические везикулы (с.в.) в аксонных терминалах а.т.1 и а.т.4 крупнее, чем в а.т.2 и а.т.3, 21 000×; Б — вблизи от активной зоны синапса в а.т.1 лежат с.в. более мелкие, чем в остальной синаптоплазме. 25 000×

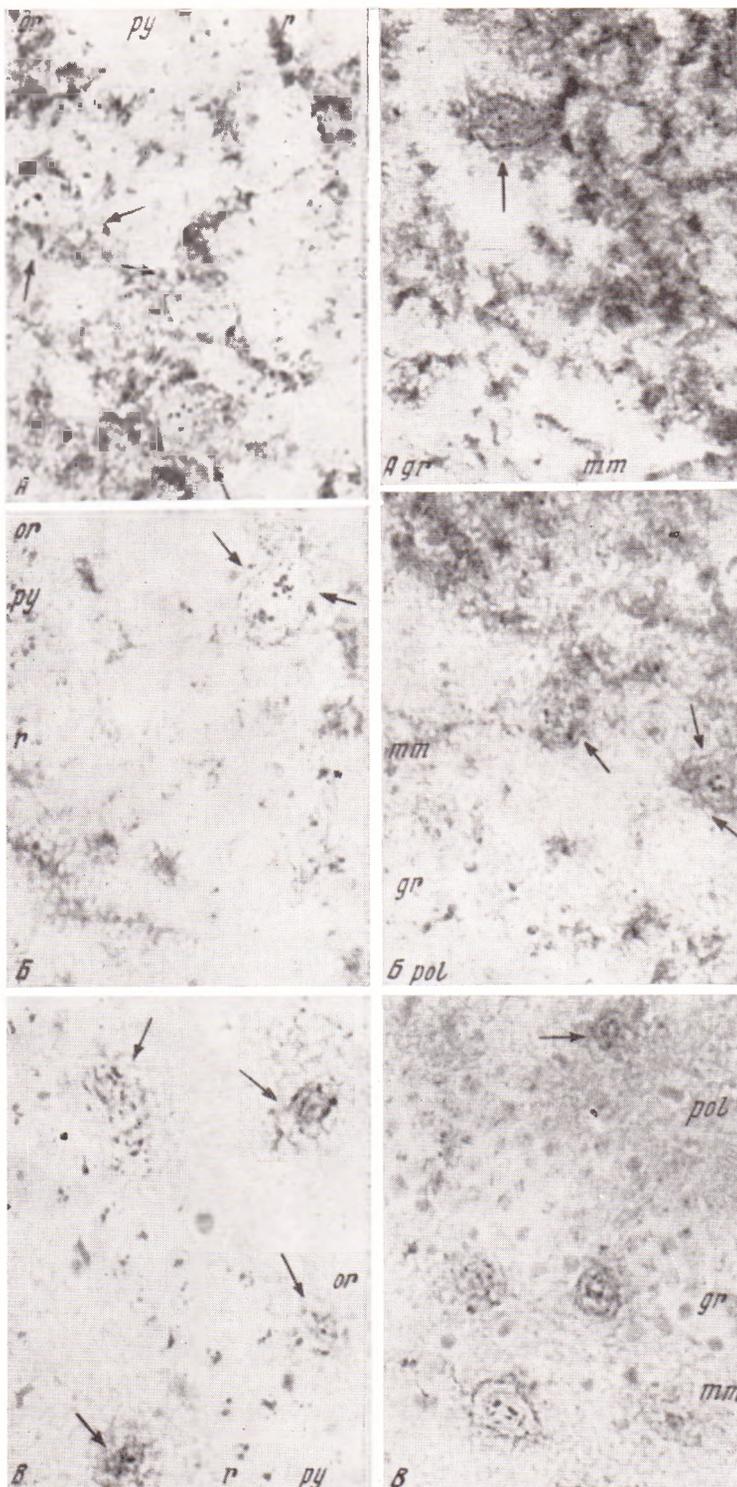


Рис. 1

Рис. 2

Рис. 1. Изменение активности АХЭ в корзинчатых клетках поля СА₁ гиппокампа в разные сроки после отсечения септум. А — норма, В — через 2 дня, В — через 4 дня после операции. Стрелки указывают на тела корзинчатых нейронов, *or* — str. oriens, *py* — str. pyramidale, *r* — str. radiatum. Ок. 12, 5×; об. 25×

Рис. 2. Изменения активности АХЭ в короткоаксонных нейронах зубчатой фасции в разные сроки после отсечения септум. А — норма, В — через 2 дня, В — через 4 дня после операции. Стрелки указывают на тела короткоаксонных нейронов, *pol* — str. polymorphe, *gr* — str. granulosum, *mm* — внутренняя треть str. moleculare. Ок. 12, 5×; об. 25×

Изложенные выше результаты могут служить основой для дальнейших исследований по идентификации принадлежности отдельных категорий а.т. конкретным популяциям аксонов. Эта задача относится к разряду сложных, ввиду отсутствия очевидных морфологических особенностей групп аксонов разного происхождения в коре больших полушарий по сравнению, например, с корой мозжечка (¹, ⁴, ¹¹).

При сравнении диаметров с.в. в пределах отдельных а.т. была обнаружена тенденция к концентрации вблизи от активной зоны синаптического контакта групп с.в. с минимальными диаметрами. Наглядный пример этого представлен на рис. 1Б. Аналогичные наблюдения были ранее сделаны на материале а.т. периферических отделов нервной системы (¹⁸, ¹⁹). Обнаруженная тенденция была подтверждена нами посредством количественного анализа, проведенного на случайно выбранных а.т. При этом было дополнительно установлено, что с.в. с наибольшими размерами располагаются вне выделенной нами области а.т. вблизи от активной зоны синапса (в пределах 1750 Å) (¹⁹). Эти факты могут свидетельствовать о существовании региональных различий размеров с.в. внутри отдельных а.т. Ввиду принципиальной значимости подобного явления для выяснения происхождения и жизненного цикла с.в. (⁶), представляется существенным исследовать его специально на более обширном материале.

Ленинградский государственный университет
им. А. А. Жданова

Поступило
24 I 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ K. Uchizono, Nature, v. 207, 642 (1965). ² D. Bodian, Bull. John Hopkins Hospital, v. 119, 16 (1966). ³ D. Bodian, J. Cell Biol., v. 44, 115 (1970). ⁴ O. Valdivia, J. Comp. Neurol., v. 142, 257 (1971). ⁵ M. E. Dennison, J. Cell Sci., v. 8, 525 (1971). ⁶ Д. Н. Ленков, В сборн. Итоги науки и техники, сер. Физиол. человека и животных, т. 10, 40 (1972). ⁷ А. С. Багуев, В. П. Бабминдра и др., Матер. объедин. плен. всесоюз. пробл. комиссии: Функц. структ. основы системной деятельн. и механизмы пластичн. мозга, М., 1972, стр. 8. ⁸ А. С. Багуев, Д. Н. Ленков и др., В сборн. Конвергенция и синапсы, М., 1973, стр. 29. ⁹ E. Kawana, K. Akert, H. Bruppacher, J. Comp. Neurol., v. 142, 297 (1971). ¹⁰ J. M. Kemp, Brain Res., v. 11, 464 (1968). ¹¹ D. Duncan, R. Morales, V. A. Benignus, Anat. Rec., v. 168, 1 (1970). ¹² Д. Н. Ленков, А. А. Пирогов, ДАН, т. 205, 745 (1972). ¹³ Д. Н. Ленков, Журн. высш. нервн. деят., т. 23, 1082 (1973). ¹⁴ A. S. Batuev, D. N. Lenkov, Acta biol. med. germ., v. 31, 705 (1973). ¹⁵ C. Sotelo, P. Angout, Exp. Brain Res., v. 16, 410 (1973). ¹⁶ Г. Крамер, Математические методы статистики, М., 1948. ¹⁷ A. Purpurs, С. Палей, Г. Уэбстер, Ультраструктура нервной системы, М., 1972. ¹⁸ B. G. Gragg, Brain Res., v. 15, 79 (1969). ¹⁹ S. F. Jones, S. Kwanbunbumpen, J. Physiol. (London), v. 207, 31 (1970).