

С. Н. РОМАНОВ

**ВЛИЯНИЕ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ РАЗДРАЖЕНИЯ НЕРВНЫХ
КЛЕТОК НА ВЕЛИЧИНУ СВЯЗЫВАНИЯ ИМИ КРАСИТЕЛЕЙ**

(Представлено академиком Л. А. Орбели 1 VI 1948)

В настоящее время можно считать установленным, что протоплазма при повреждении обнаруживает повышенное сродство к красителям (1). В 1938—1939 гг. нам удалось показать, что при возбуждении ганглиозных клеток кролика индукционным током также наблюдается повышенное сродство к красителю. Сродство обнаруживают нервные клетки спинальных ганглиев, взятые из шокового кролика. Усиление связывания при возбуждении наблюдали: Б. Ушаков (3) на ганглиозных клетках лягушки, Н. Смиттен (4) также на ганглиозных клетках лягушки, М. Киро на мышцах лягушки, А. Гинецинский (5) на мышцах различных животных.

В данной работе мы продолжили наши исследования о реакции нервных клеток в ответ на раздражение индукционным током. В основном экспериментальные исследования были предприняты для выяснения двух вопросов: во-первых, существует ли принципиальное различие в связывании возбужденными нервными клетками кислых и основных красителей; во-вторых, какая зависимость между величиной связывания красителя нервными клетками и продолжительностью их раздражения.

Материал и методика. Вся работа была проведена на спинномозговых ганглиях кролика. Кролик убивался воздушной эмболией в ушную вену. С дорзальной стороны делался разрез кожи, которая затем снималась по обеим сторонам позвоночника. Затем позвоночник, очищенный от мягких тканей, вскрывался и обнажался спинной мозг от шейного до поясничного отделов. Во избежание излишней травмы, периферические отростки ганглиев отпрепаровывались вместе с окружающей их тканью и подрезались на расстоянии 2—3 см от спинного мозга. Затем нервные волокна очищались от окружающих тканей, и обнаженный ганглий вместе с отростком отделялся от спинного мозга. Извлеченные таким путем ганглии помещались в раствор Рингера для теплокровных. После препаровки ганглиям давался «отдых» в рингеровском растворе при комнатной температуре в течение 40 мин. В большинстве случаев из кролика извлекалось 7 пар ганглиев шейного и грудного отделов. Как правило, ганглии левой стороны спинного мозга брались для опыта, а симметричные им ганглии правой стороны служили контролем. После 40 мин. «отдыха» от препаровки опытные ганглии своими нервными стволами помещались на платиновые электроды на 8—10 мин., само же тело ганглия опускалось в 0,05% раствор нейтрального красного. Раздражение осуществлялось индукционным током от катушки, питаемой аккумулятором в 2 V. Расстояние вторичной катушки — 11 см. Раздражение при одновременной

окраске длилось 45 мин. Одновременно, также в течение 45 мин., окрашивались и контрольные ганглии. После определенного срока окраски ганглии очищались от оболочек, отрезались нервные волокна и очищенные ганглии помещались в 70° спирт, подкисленный серной кислотой. Через 10—13 час. краска полностью экстрагировалась из ганглия. Количество краски, содержащейся в экстракте, определялось фотометром Пульфриха и пересчитывалось на единицу сухого веса взятых ганглиев. Результаты выражались в процентах к контролю.

Влияние надпороговых доз раздражения на величину связывания красителя спинномозговыми ганглиями. Порог возбудимости определялся на живом кролике. Как правило, он колебался от 21 до 23 см расстояния вторичной катушки. Кролик убивался воздушной эмболией, и снова определялся порог возбудимости. Оказалось что порог возбудимости не меняется в течение 40 мин. после смерти кролика и колеблется в пределах 21—23 см. Чтобы заведомо знать, что применяемая нами сила раздражения изолированных ганглиев выше пороговой, мы сдвигали вторичную катушку на 11 см, т. е. уменьшали расстояние вдвое. Раздражение и окраска опытных ганглиев, также одновременная окраска контрольных проводилась при комнатной температуре в строго одинаковых условиях.

Всего было поставлено 8 опытов. Результаты их сведены в табл. 1.

Таблица 1
Относительное количество связанного
нейтрального красного в процентах
к контролю

№ опыта	%	№ опыта	%
1	126,5	5	143,0
2	128,6	6	141,0
3	135,3	7	152,0
4	129,0	8	138,0
Среднее . . . 136,7 ($M=36,7 \pm 3,12$)			

Как видно из табл. 1, каждый опыт в отдельности значительно отклоняется от контроля. Табл. 1 показывает, что нервные клетки при раздражении их индукционным током надпороговой силы связывают на 36,7% красителя больше, чем клетки, не подвергавшиеся раздражению. Следующие опыты были поставлены при тех же условиях, но с кислым красителем.

Согласно денатурационной теории Д. Насонова и В. Александрова, при любом повреждении живого вещества происходит активация или увеличение числа свободных ионизированных групп. Это и лежит в основе того, что живое вещество при повреждении увеличивает сродство как к основным, так и к кислым красителям. Исходя из этого, можно было заранее ожидать, что от раздражения индукционным током будет увеличиваться сродство и к кислым красителям. В качестве кислого красителя применялся цианол в концентрациях 0,05%.

Результаты опытов сведены в табл. 2.

Эти опыты ясно показывают, что при раздражении нервных клеток индукционным током через нерв, как и при обратимом повреждении живого вещества, наблюдается усиление сродства не только к основным, но и к кислым красителям. В наших опытах, как видно из табл. 2,

Таблица 2

Относительное количество связанного цианола в процентах к контролю

№ опыта	%	№ опыта	%
1	140,9	6	140,6
2	153,9	7	191,0
3	158,9	8	189,0
4	145,3	9	166,0
5	114,6	10	199,1

Среднее . . . 159,9 ($M = 59,9 \pm 8,2$)

нервные клетки при раздражении индукционным током связывают кислый краситель даже больше (159,9%), чем основной (136,7%). Микроскопический анализ показывает, что усиление окраски идет за счет диффузного распределения цианола в клетках. В случае применения нейтрального красного микроскопическая картина не всегда ясна. Наряду с диффузной окраской, имеется и гранулярное отложение красителя.

Таким образом, мы еще раз подтверждаем, что при сильном раздражении индукционным током нервные клетки связывают значительно больше красителя, чем клетки, не подвергавшиеся раздражению.

Следующие опыты поставлены для изучения реакции нервных клеток при различных сроках раздражения.

Влияние продолжительности раздражения на величину связывания красителя. Для выяснения данного вопроса были поставлены три группы опытов. В первой группе ганглии раздражались в течение 10 мин. при одновременной окраске, во второй группе опытов они раздражались и одновременно красились в течение 20 мин. и в третьей группе раздражались и красились в течение 45 мин. Расстояние вторичной катушки во всех случаях было 11 см. В качестве красителя применялся нейтральный красный в концентрациях 0,1%. Параллельно окрашивались и контрольные ганглии, но без раздражения. Результаты всех трех групп опытов изображены кривой 1 рис. 1.

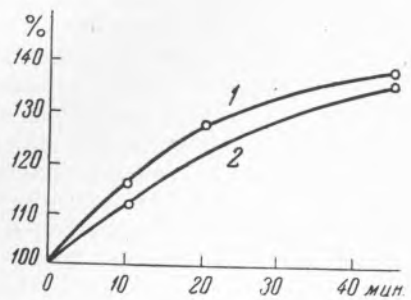


Рис. 1

Чтобы исключить возможность влияния продолжительности окраски на величину связывания красителя, были поставлены опыты в следующей модификации. Также проведено три группы опытов. В первой группе опытов ганглии 10 мин. раздражались и одновременно красились; во второй группе ганглии предварительно раздражались 10 мин. без окраски, а последующие 10 мин. раздражались и одновременно красились; в третьей группе они раздражались без окраски 35 мин., а последующие 10 мин. и раздражались и красились.

Таким образом, во всех трех группах опытов ганглии красились одинаково в течение 10 мин. Переменной величиной была продолжительность раздражения. Результаты этой серии опытов изображены кривой 2 рис. 1. Таким образом, из рис. 1 видно, что с увеличением

времени раздражения увеличивается связывание красителя нервными клетками.

После всех этих опытов мы с полным основанием можем дать ответы на поставленные в начале статьи вопросы. При продолжительном раздражении нервные клетки спинальных ганглиев кролика увеличивают сродство как к основным, так и к кислым красителям. Это указывает, что повышенное сродство к красителям при возбуждении связано не со сдвигом рН в ту или иную сторону, а с увеличением свободных ионизированных групп, с которыми и осуществляется связь как основного, так и кислого красителя.

Можно определенно сказать, что в интервале от 10 до 45 мин. наблюдается прямая зависимость величины связывания красителя от продолжительности раздражения. С увеличением продолжительности раздражения увеличивается количество связанного в единицу времени красителя.

Отдел общей морфологии
Института экспериментальной медицины
Академии медицинских наук

Поступило
28 V 1948

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Д. Насонов и В. Александров, Реакция живого вещества на внешние воздействия, изд. АН СССР, М., 1940. ² С. Романов. Диссертация, ИЭМ, Л., 1946. ³ Б. Ушаков, Уч. зап. ЛГУ (1947). ⁴ Н. Смиттен, Сб., посвящ. акад. А. А. Заварзину, 1947. ⁵ А. Гинецинский, Физиол. журн. СССР, 33, № 4, 40 (1947).