

УДК 612.83

О. О. Шугуров

Днепропетровский национальный университет им. Олеся Гончара

МЕЖСЕГМЕНТАРНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ СИСТЕМ ПРЕСИНАПТИЧЕСКОГО ТОРМОЖЕНИЯ В СПИННОМ МОЗГЕ

Досліджено вплив стимуляції сусідніх дорсальних корінців у L_5 – L_7 -сегментах спинного мозку на N_1 та P -компоненти потенціалу дорсальної поверхні спинного мозку. Наведено дані про зміни цих відповідей при одночасних і зсувних у часі стимулах на дорсальних корінцях. Показано, що просторові зони активності нейронів N_1 компонента незалежні, у нейронів желатинозної субстанції вони перетинаються. Розглянуто причини такого перетину.

O. O. Shugurov

Oles' Gonchar Dnipropetrovsk National University

INTERSEGMENTAL INTERACTION OF SYSTEMS OF PRESYNAPTIC INHIBITION IN A SPINAL CORD

In this message the effect of stimulation of nearest dorsal roots in segments L_5 – L_7 of spinal cord on N_1 and P components of the cord dorsum potential is described. The changes of these components at simultaneous stimulation of dorsal roots and at the “moved in time” stimulation are shown. We point that such spatial zones of activity of N_1 -component neurons are independent, but the same zones for the neurons of substantia gelatinosa overlap. The causes of such spatial property of neurons of spinal cord are considered.

Введение

Деполаризация первичных афферентов (ДПА), являясь основой деятельности механизма пресинаптического торможения, вызывается импульсацией, пришедшей в спинной мозг (СМ) по быстрым афферентам, и влияет не только на «свои», но и на «чужие» волокна [14]. Нейроны желатинозной субстанции (ЖС), отвечающие за выброс деполаризирующего медиатора (в частности ГАМК), образуют плотную нейронную сеть, обеспечивающую распространение собственной активности на область афферентных входов [3; 8; 10]. При этом продолжающаяся спайковая активность может достигать времени 1 с, что свидетельствует о сложности путей генерации ДПА [8]. В «ждущем» режиме такие нейроны практически молчат, однако в активном состоянии (например, при ритмическом раздражении афферентов) обеспечивают во времени достаточно стабильный уровень ДПА [15].

Тонкие верхние слои дорсального рога серого вещества СМ являются как областью окончания тонких афферентов групп A_δ и C , передающих ноцицептивную информацию [10; 12], так и зоной, через которую проходят быстропроводящие мышечные и кожные волокна A_α и A_β в более глубокие слои [2; 4; 5; 16]. Сложные возбуждающие и тормозящие ответы нейронов этой области на активацию разнообразных первичных афферентных и нисходящих входов были зарегистрированы в дорсальных областях СМ [6; 7]. Принципы зависящей от многих факторов интеграции синаптической актив-

ности, которая поступает к этим нейронам и определяет их выходные сигналы, представляют очевидный интерес. В связи с этим в задачу исследований входило изучение взаимодействия нейронных групп, ответственных за межсегментарное пресинаптическое торможение на афферентных входах в дорсальной части СМ.

Материал и методы исследований

Для решения такой задачи стимулировали периферические нервы *n. tibialis communis* и *n. peroneus communis* с силой 3 порога (П). По стандартной методике регистрировали потенциалы дорсальной поверхности (ПДП) СМ в области сегментов L_5-S_1 . Кроме того, по методике Уолла [13] регистрировали антидромные потенциалы действия (АПД) от филламентов дорсальных корешков (ДК) в указанных сегментах при внутримозговой стимуляции терминальной зоны этих сегментов и предварительной раздельной стимуляции ДК L_5 или L_7 сегментов, или при их совместной активации (рис. 1а).

Результаты и их обсуждение

При повторной активации терминалей с помощью коаксиальных или тонких парных изолированных (за исключением кончика) электродов АПД изменяют свою амплитуду. На уровне межимпульсного периода 10–80 мс последняя увеличивается, поскольку второе раздражение идет на фоне деполяризованных первым импульсом афферентных волокон [13; 14]. Обычно повторную стимуляцию делают при небольшой силе, для создания запаса роста амплитуды ответа, тогда как первый импульс должен охватывать все входные волокна.

Такой прирост величины АПД («подкрепление») в зависимости от межимпульсного интервала, описывает временное течение ДПА в терминалях афферентов (амплитуда АПД выше прерывистой линии на рис. 1б). В наших опытах наиболее эффективно подкрепление АПД при первоначальной активации собственного корешка (I на рис. 1б), которое в этом случае проявляется в максимуме (по времени соответствует максимуму проявления ДПА), и составляет 45–50 %. При предварительной стимуляции L_5 или L_7 корешков подкрепление оказалось существенно меньше (15–20 % и 20–30 % соответственно).

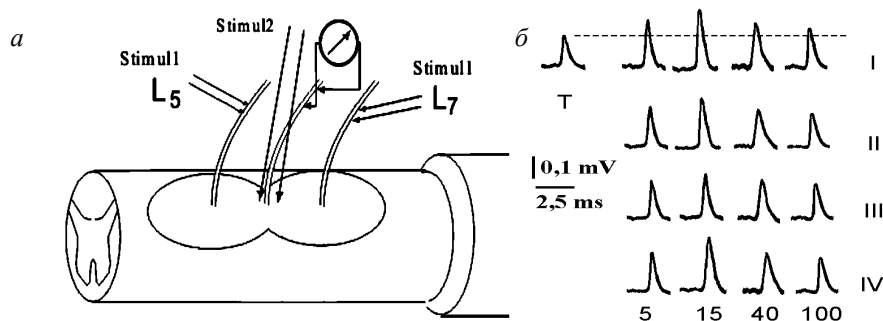


Рис. 1. Схема проведения экспериментов (а) и зарегистрированные в них АПД (б): на а: Stimul1 – кондиционирующий (К) стимул на L_5 или L_7 корешки; Stimul2 – тестирующий (Т) на терминали L_6 ДК; на б: Т – АПД при одиночной стимуляции терминали; 5, 15, 40, 100 – интервал между К и Т (мс); К стимул наносили в L_6 (I), L_7 (II), L_5 (III), L_5+L_7 (IV); К стимул – 3 П, Т – 1,5 П; прерывистая линия – уровень, показывающий величину подкрепления АПД

Одновременная совместная стимуляция близлежащих корешков (L_5 и L_7) приводит к увеличению подкрепления до 35–40 %. Нами получен интересный факт, что одновременная стимуляция указанных корешков является не самым оптимальным вариантом для роста ДПА. Смещение по времени стимула в нижнем (L_7) корешке в более

ранний период стимуляции относительно L_5 на 8–10 мс ведет к увеличению подкрепления АПД до 20–22 %. Временное смещение для импульсов в верхнем и нижнем сегменте от данного значения приводило к последовательному уменьшению подкрепления до 15–18 % (рис. 2). Аналогичным образом изменялась и P -волна при стимуляции смежных с исследуемым сегментов.

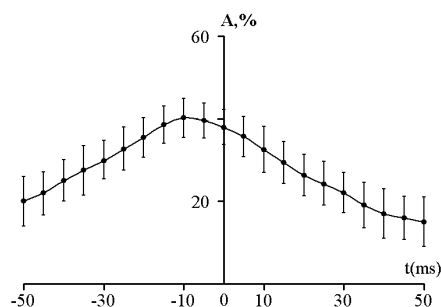


Рис. 2. Изменения подкрепления АПД при временных сдвигах между кондиционирующими стимулами, приложенными к L_5 и L_7 ДК: по оси Y – подкрепление АПД (% к величине АПД на кондиционирование); по оси X – интервал смещения между стимулами (мс), приложенными к L_5 и L_7 ДК; 0 – одновременный стимул, « \leftarrow » – опережение L_7 относительно L_5 , « \rightarrow » – опережение стимуляции L_5 относительно L_7

Сходные данные получены и при регистрации ПДП в условиях раздельной и совместной стимуляции различных соседних ДК СМ (рис. 3). В частности, стимулировали ДК нижних сегментов пояснично-крестцового утолщения от L_5 до L_7 , регистрацию потенциалов проводили с поверхности мозга на равном расстоянии от обоих корешков. В первом случае (рис. 3а) стимуляцию осуществляли на два соседних корешка L_5 и L_6 . При этом, в соответствии с формулой для определения конвергентно-дивергентных связей в СМ [1] для N_1 -компонента $K \cong 1$, для P -фазы $K = 1,43 \pm 0,05$. При еще большем расхождении точек входа активности в СМ, во время стимуляции корешков с промежутком в сегмент (рис. 3б) оба коэффициента были близкими к приведенным выше (1,03 и 1,37).

Очевидно, что афферентные входы, обеспечивающие возникновение N_1 -компонента ПДП в каждом сегменте, не переходят в соседний сегмент. Поэтому в каждом случае возбуждаются полностью «другие» нейроны данной группы, а суммарный ответ (на одновременную стимуляцию корешков L_5 и L_6) равен сумме ответов на активацию каждого ДК в отдельности ($K \cong 1$).

Ситуация для нейронов ЖС имеет другой характер. Примерно 30–40 % деполяризации, проявляющейся в виде P -волны, приходится на звенья с общими нейронами, активация которых осуществляется с обоих ближайших корешков. Расхождение стимулируемых корешков (например L_5 и L_7 , см. рис. 3) уменьшает уровень связности нейронов, но незначительно. Вероятно, имеются определенные длинные связи, обеспечивающие передачу деполяризационных взаимодействий между сегментами в пределах пояснично-крестцового утолщения. При смещении времени стимуляции соседних корешков (рис. 3в) максимальная P -волна ПДП отмечена не в случае одновременной стимуляции указанных корешков, а при более ранней (4–5 мс) активации нижележащих (в данном случае – L_6). Поскольку стимуляция осуществлялась электродами, расположенными на равном удалении от точки входа ДК в мозг, то указанный характер развития P -волны свидетельствует о наличии преимущественного направления перемещения зоны активности нейронов желатинозной субстанции в краниальном на-

правлении (снизу вверх), что соответствует данным по изменениям деполяризации, приведенным на рисунках 1 и 2.

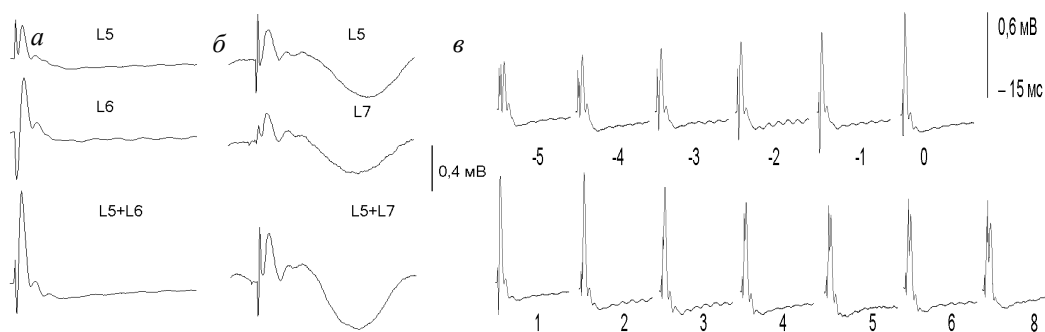


Рис. 3. МП при раздельной и совместной стимуляции ДК СМ:
а, б – МП при раздельной и совместной стимуляции (с силой 1,8 П) дорсальных корешков (указаны возле осциллограмм, длительность записей – 150 мс); *в* – МП при изменении интервала времени между стимулами, нанесенными на ДК L_5 и L_6 ; *0* – одновременная стимуляция корешков; *1–8* – межимпульсные интервалы (мс); знак « \leftarrow » соответствует опережению стимула на L_5 относительно L_6 ; приведены данные 8 опытов на разных животных

Если учитывать тот факт, что нейроны ЖС возбуждаются не только от первичных афферентных волокон, но и от соседних нейронов [4], то указанные данные свидетельствуют, что возбуждение одних дорсальных корешков приводит к деполяризации афферентов в соседних. Распространение возбуждения от нейрона к нейрону II и III слоев идет как в краниальном, так и сакральном направлении, причем скорость такого распространения неодинакова в различных сегментах. Это может быть связано или с небольшим увеличением длины аксонов нейронов ЖС в сакральных сегментах, или с различной длиной зоны дорсального рога, обслуживаемой такими нейронами.

Ранее в опытах на хлоралозных и децеребрированных котах было показано, что при внутриклеточной регистрации ответов от нейронов ЖС обнаружено существование их продолжительной синаптической деятельности [9; 10]. 59 % нейронов ЖС показали длительную спайковую активность. Авторы предложили, что характер активности нейронов ЖС – результат сходимости на нейронах большого количества маленьких независимых нервных влияний, принимая во внимание, что активность нейронов в тонкой пластине III – результат возбуждения мощными синхронными импульсами синаптических афферентных входов.

Характеристики распространения деполяризации внутри мозговых структур в первую очередь могут зависеть от пространственных характеристик нейронов ЖС и специфики их связей в дорсальном роге СМ. В целом параметры и свойства нейронов ЖС хорошо изучены [4]. В морфологических исследованиях на крысах с использованием гистохимической окраски в горизонтальных срезах (срединная часть дорсального рога СМ – слоям II–III) было показано наличие двух типов нейронов ЖС. «Проекционные» нейроны (ПН; 37 % общего количества) посылают свои аксоны областям вне слоев II–III, «собственные» нейроны (СН; 63 %) – дают аксоны только в II–III [11]. СН разделяют на нейроны с плотным (ПАВ; 30 %) и редким аксональным ветвлением (РАВ; 33 %). ПН имеют аксоны, распространяющиеся по позвоночным столбам ко всем слоям I–III. Главные аксоны послали коллатерали в пределах ЖС краниально и каудально или в середину слоев II и III, межполярное спинномозговое тройничное ядро, верхние цервикальные сегменты СМ. Направление аксонных дендритов ПАВ, являющихся результатом краниального и каудального полюса тел нейронов, главным

образом расширяющихся рострально и каудально, параллельно ростокаудальной оси ЖС, дендриты нейронов имеют удлинненную овальную форму и заключены в пределах ЖС. Аксональная область каждого ПАВ, обеспечивающая плотную петлю аксональных процессов – удлинненной овальной формы и практически ограничена в пределах ЖС. ПАВ маленьких круглых сом нейронов расположены в центре каждой дендритной области, которая обычно ограничена пределами ЖС. Аксонные процессы в них бегут радиально и распространяются во все слои срединной части дорсального рога, однако медленное развитие деполяризации и медленная постдеполяризация зарегистрирована только в ПАВ [11].

Наличие увеличения подкрепления в корешке L_6 при стимуляции L_5 и L_7 свидетельствует об эффективности межсегментарных связей «проекционных» нейронов ЖС (см. рис. 1). Преимущественное направление влияний хорошо проявляется фактом превышения подкрепления (на 5–10 %) при стимуляции нижележащих корешков относительно вышележащих. Причина этого может лежать в пространственной ориентации нейронного пула ЖС, обеспечивающей соответствующий коэффициент конвергенции-дивергенции ($K = 1,43$).

Как было показано выше, вытянутая эллипсоидная форма аксонного ветвления нейронов ЖС имеет ярко выраженную ростокаудальную направленность. Естественно ожидать, что такое пространственное распределение аксонов влияет на форму вызванных потенциалов от данной группы нейронов, вынесенных на поверхность мозга в виде ПДП, и на афферентные терминалы в виде ЗКП. Поэтому при предварительной стимуляции корешков, находящихся более каудально от точки регистрации, суммарная активность нейронов ЖС направлена рострально – в сторону более высоких люмбальных сегментов. Соответственно, совместная стимуляция двух соседних корешков приводит к ситуации, когда максимум активности проявляется не при одновременной их активации, а при предварительной стимуляции нижележащего. Найденное время, которое необходимо для достижения максимальной ДПА, как свидетельствуют наши данные (рис. 2), составляет 5–10 мс.

Выводы

1. Нейроны N_1 -компонента ПДП СМ не оказывают влияния на аналогичные нейроны, активируемые афферентными волокнами, входящими в дорсальные корешки соседних сегментов. Это свидетельствует об отсутствии пересечения зон активации от волокон гр. A_β на входе СМ.

2. Максимум ДПА в пресинаптических терминалах развивается при предварительной активации (5–10 мс) афферентных входов более каудальных (относительно исследуемого) сегментов.

3. Около 30–40 % деполяризации, проявляющейся в виде P -волны ПДП, приходится на звенья с общими нейронами, активация которых осуществляется с ближайших (соседних) корешков.

4. Рострально направленное развитие деполяризационных процессов в СМ может быть связано с преимущественной ориентацией аксонов клеток ЖС.

Библиографические ссылки

1. **Шугуров О. О.** Критерии дивергентно-конвергентных отношений в моносинаптических нейронных системах спинного мозга // Биол. вестник (ХНУ). – 2007. – Т. 11, № 2. – С. 30–35.
2. **Brown A. G.** The dorsal horn of the spinal cord // J. Exp. Physiol. – 1982. – Vol. 67, N 1. – P. 193–212.

3. **Carlton S. M.** Peripheral GABAA receptors: evidence for peripheral primary afferent depolarization / S. M. Carlton, S. Zhou, R. E. Coggeshall // *Neuroscience*. – 1999. – Vol. 93, N 2. – P. 713–722.
4. **Cervero F.** The substantia gelatinosa of the spinal cord. A critical review / F. Cervero, A. Iggo // *Brain*. – 1980. – Vol. 103, N 4. – P. 717–772.
5. **Koerber H. R.** Morphology of functional long-ranging primary afferent projections in the cat spinal cord / H. R. Koerber, K. Mirnics // *J. Neurophysiol.* – 1995. – Vol. 74, N 6. – P. 2336–2348.
6. **Lidierth M.** Dorsal horn cells connected to the Lissauer tract and their relation to the dorsal root potential in the rat / M. Lidierth, P. D. Wall // *J. Neurophysiol.* – 1998. – Vol. 80, N 2. – P. 667–679.
7. **Manjarrez E.** Intersegmental synchronization of spontaneous activity of dorsal horn neurons in the cat spinal cord / E. Manjarrez, I. Jimenez, P. Rudomin // *Exp. Brain Res.* – 2003. – Vol. 148. – P. 401–413.
8. **Melnick I. M.** Ionic basis of tonic firing in spinal substantia gelatinosa neurons of rat / I. M. Melnick, S. F. A. Santos, K. Szokol // *J. Neurophysiol.* – 2004. – Vol. 91, N 1. – P. 646–655.
9. **Statistical analysis of ongoing activity of neurones in the substantia gelatinosa and in lamina III of cat spinal cord** / W. M. Steedman, A. Iggo, V. Molony et al. // *Quarterly J. Exp. Physiol.* – 1983. – Vol. 68. – P. 733–746.
10. **Steedman W. M.** The influence of cutaneous inputs on the activity of neurones in the substantia gelatinosa / Processing of sensory information in the superficial dorsal horn of the spinal cord // Ed. by F. Cervero. – New York : Plenum press, 1989. – P. 145–158.
11. **Substantia gelatinosa neurons in the medullary dorsal horn: an intracellular labeling study in the rat** / Y.-Q. Li, H. Li, T. Kaneko, N. J. Mizuno // *J. Comp. Neurol.* – 1999. – Vol. 411, N 3. – P. 399–412.
12. **Sugiura Y.** Difference in distribution of cenral terminals between visceral and somatic unmyelinated (C) primary afferent fibers / Y. Sugiura, T. Naohito, H. Yasahiko // *J. Neurophysiol.* – 1989. – Vol. 62, N 4. – P. 834–840.
13. **Wall P. D.** Excitability changes in afferent fibre termination and their relation to slow potentials // *J. Physiol. (Lond.)*. – 1958. – Vol. 142, N 1. – P. 1–21.
14. **Wall P. D.** Five sources of a dorsal root potential: their interactions and origins in the superficial dorsal horn / P. D. Wall, M. Lidierth // *J. Neurophysiol.* – 1997. – Vol. 78, N 2. – P. 860–871.
15. **Yoshimura M.** Membrane properties of rat substantia gelatinosa neurons *in vitro* / M. Yoshimura, T. M. Jessell // *J. Neurophysiol.* – 1989. – Vol. 62, N 1. – P. 109–118.
16. **Yoshimura M.** Primary afferent evoked synaptic responses and slow potential generation in rat substantia gelatinosa neurons *in vitro* / M. Yoshimura, T. M. Jessell // *J. Neurophysiol.* – 1989. – Vol. 62, N 1. – P. 96–108.

Надійшла до редколегії 22.01.2009