Академія Наук України
Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця

На правах рукопису

ВОЙТЕНКО Лариса Павлівна

УДК 611.856.6:611.831.81+612.886:612.819.8

МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНА ОРГАНІЗАЦІЯ ВЕСТИБУЛОСПИНАЛЬНОЇ СИСТЕМИ МОРСЬКОЇ СВИНКИ

03.00.13 - фізіологія людини та тварин

Автореферат дисертації на здобуття вченого ступеня кандидата біологічних наук

Київ - 1993

Робота виконана в Інституті фізіології ім. О. О. Богомольця АН України

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук,
професор, А. Ф. Косенко;
доктор медичних наук,
М. Я. Волошин.

Провідна організація: Київський науково-дослідний інститут отоларингології ім. О. І. Коломійченка.

Захист відбудеться "16" червня 1993 р. о 14 годині на засіданні спеціалізованої ради Д 016.15.01 при Інституті фізіології ім. О. О. Богомольця АН України за адресою:

252024, Київ-24, вул. Богомольця, 4.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця АН України.

Автореферат розісланий "15" травня 1993 р.

Вчений секретар
спеціалізованої ради
доктор біологічних наук З. О. Сорокіна-Маріна

ЛННБ України ім.В.Стефаника
00814275 (R)
ЛНБ ім. В. Стефаника
АН України

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність проблеми.

Вестибулярна система належить до числа найбільш важливих супрасегментарних центрів регуляції рухової активності у хребетних. Нейрони вестибулярних ядер та їх аксони, що утворюють низхідні проекції до спинного мозку, формують одну з найстародавніших систем надсегментарного контролю рухової активності - вестибулоспинальну (Mehler, 1972).

Просторова організація розташованих в межах отовбуру мозку диференційованих груп вестибулоспинальних нейронів, а також геометричні характеристики сом нервових клітин та їх дендритів є факторами, що в суттєвій мірі визначають інтегративні властивості вестибулярних ядер, та ефективність передачі сигналів від вестибулярних рецепторів до спинного мозку (Wilson, Melvill Jones, 1979).

Сучасні знання про організацію центральних ланок вестибулоспинальної системи в значній мірі базуються на даних анатомічних робіт, виконаних в 50-х - 60-х роках переважно на кішках із застосуванням методів експериментальної дегенерації (Brodal, Pompeiano, 1957; Pompeiano, Brodal, 1957; Nyberg-Hansen, 1964, 1967; Nyberg-Hansen, Mascitti, 1964; Petras 1967). Ці дані однак не завжди погоджуються з сучасними поглядами на організацію супрасегментарного контроля пози та локомоції (Wilson, Melvill Jones, 1979). Є розбіжності при визначенні меж окремих ядер вестибулярного комплексу (Brodal, 1974; Epema et al., 1985; Gacoettner, Burian, 1987). З цим тісно пов'язана проблема трактування приналежності нейронів до тих чи інших угруповань вестибулярного комплексу при визначенні локалізації та особливостей просторового розподілення вестибулоспинальних нейронів різної функціональної спрямованості (Wilson, Yoshida, 1969, b). Досить неоднозначними є погляди на фізіологічну спеціалізацію вестибулоспинальних нейронів різних розмірів (Walberg et al., 1990; Pompeiano, 1991). Нарешті, сама наявна інформація про організацію вестибулярної системи у такої розповсюдженої лабораторної тварини, як морська свинка, не є досить детальною у порівнянні з даними щодо інших ссавців, зокрема кішки.

В зв'язку з вищевикладеним існує необхідність подальшого

докладного вивчення морфо-функціональної організації вестибулоспинальної системи більш чутливими і точними, ніж ті, що застосовувались раніш, методами із залученням математичної статистики (Wilson, Melvill Jones, 1979; Sato, Kawasaki, 1991).

Мета та завдання дослідження

Метою поданої роботи було з'ясування морфо-функціональної організації нейронних популяцій комплексу вестибулярних ядер морської свинки, що утворюють низхідні проекції до спинного мозку, чим забезпечують вестибулярній системі участь в супрасегментарному контролі рухової активності.

Під час проведення дослідження було вирішено ряд конкретних завдань, а саме:

1. Використовуючи методи цитоархітектонічних та стереометричних досліджень, вивчена та описана структурно-топічна та клітинна будова комплексу вестибулярних ядер морської свинки.

2. Застосовуючи метод ретроградного аксонного транспорту пероксидази хрону, визначена локалізація та просторове розподілення в стовбурі мозку нейронних популяцій вестибулярних ядер, що формують низхідні проекції в сіру речовину різних сегментарних рівнів спинного мозку.

3. За допомогою кількісного методу визначення діаметрів сом нервових клітин проведено порівняльний аналіз розмірів нейронів вестибулярних ядер, що утворюють спиномозкові проекції, та нейронів цих же ядер, позбавлених таких проекцій.

Наукова новизна отриманих результатів

Отримані нові дані про цитоархітектоніку та топічну організацію комплексу вестибулярних ядер у морської свинки. Визначені точні межі вестибулярного комплексу та розроблено стереотаксичні карти окремих вестибулярних ядер.

Створено оригінальний атлас стовбуру мозку морської свинки.

Вперше наведені кількісні дані про розміри нейронів окремих вестибулярних ядер. Встановлена наявність гігантських нейронів не тільки в латеральному, але і в медіальному та низхідному вестибулярних ядрах.

Вперше здійснено кількісний аналіз просторового розподілення вестибулоспинальних нейронів латерального, медіального та низхідного вестибулярних ядер. На фронтальних зрізах диференційованих рівнів стовбуру мозку картовані області

локалізації нейронів, які утворюють перехресні та неперехресні проекції до різних сегментів спинного мозку. Одержані характеристики популяцій вестибулоспинальних нейронів каудальних ділянок медіального та низхідного вестибулярних ядер, проекції яких знаходяться в дорсолатеральних частинах сірої речовини спинного мозку та просторово збігаються з проекціями кортико- та руброспинальних трактів.

Отримані нові кількісні дані про розміри клітин вестибулярних ядер, аксони яких проецюються до спиного мозку. Доведено, що джерелом таких проекцій є переважно великі та гігантські нейрони. Нейрони дрібних розмірів не утворюють волоконних систем до спинного мозку.

Вперше показано, що по подовжній осі стовбуру мозку вестибулоспинальні нейрони різних розмірів розподілені відносно рівномірно. Виразної топічної організації вестибулоспинальних нейронів, що утворюють проекції до різних сегментарних рівнів спичного мозку морської свинки, не виявлено.

Теоретичне та практичне значення роботи

Одержані дані значно доповнюють та суттєво розширюють існуючі уявлення про морфо-функціональну організацію вестибулоспинальних систем у ссавців. Ці результати мають важливе теоретичне значення для розуміння нейрофізіологічних механізмів координування м'язевої активності, що необхідна для підтримання пози та рівноваги, а також супраспинальної регуляції локомоцій. Отримані відомості можуть бути застосовані при подальшій розробці проблем нейрофізіології руху. Доцільним є практичне використання даних цієї роботи в галузях авіаційної та космічної медицини, а також в неврології, пояснюючи деякі патологічні стани у людини, пов'язані з руховим компонентом вестибулярного симптомокомплексу.

Апробація роботи.

Результати досліджень, наведених в дисертаційній роботі були представлені на Всесоюзному симпозіумі "Регуляция сенсомоторных функций" (Вінниця, 1989), на Всесоюзній науковій конференції "Нейрогуморальные механизмы регуляции висцеральных органов и систем" (Томськ, 1989), на засіданні Вченої ради Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця АН України (Київ, 1993).

Об'єм та структура дисертації.

Робота викладена на 134 сторінках машинописного тексту та

складається з вступу, п'яти розділів, висновків та бібліографічного покажчика. Дисертація ілюстрована 22 малюнками та трьома таблицями. Бібліографічний покажчик налічує 168 джерел, з них 32 - російськомовних та 136 - англомовних.

МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕНЬ

Досліди були проведені на 43 морських свинках масою 700 - 900 г.

Дослідження структурної та топічної організації комплексу вестибулярних ядер.

Тварини наркотизувались нембуталом (40 мг/кг, внутрішньом'язево) та перфузувались інтракардіально через висхідну дугу аорти спочатку фізіологічним розчином (0,9% NaCl) в об'ємі 400 мл з доданням 1 мл гепарину, а потім 4% розчином формальдегіду в об'ємі 500 мл. Після перфузування тварин декапітували.

Череп фіксували в головотримачі стереотаксичного апарату СКК-3 зубний тримач якого було модифіковано відповідно до анатомії верхньої щелепи морської свинки. Потім череп було орієнтовано таким чином, що площина, яка проходить скрізь центри зовнішніх слухових проходів та основу верхніх різців, розташовувалась горизонтально (Scentagotai, 1957). Цю площину було прийнято за основний горизонтальний план. Нульовий горизонтальний план було утворено при повороті черепу відносно міжвушної осі ростральним полюсом вниз на 37^{0}. Нульовий фронтальний план було утворено площиною, що проходить через міжвушну вісь перпендикулярно нульовому горизонтальному плану. За сагітальний нульовий план було прийнято площину, що проходить по сагітальному шву черепу перпендикулярно горизонтальному та фронтальному планам.

Координати вестибулярних ядер (ВЯ) визначали з застосуванням трьох пар сталевих голок (двух вертикальних та одної горизонтальної), які через трепанаційні отвори було уведено до мозку на фіксований відстані від нульових фронтального та горизонтального планів (Мещерский, 1961). Потім череп разом з мозком вміщували в 10% формальдегід для дофіксування на протязі 14 діб. По закінченню цього терміну виготавляли серійні заморожені зрізи товщиною 45 мкм, орієнтовані в площині розрізу мозку по вертикальним голкам. При визначенні координат було враховано

корекції на зморщування тканини при фіксуванні (Ranson, Ingram, 1931).

Кожний парний зріз було пофарбовано нейтральним червоним (1% водний розчин); ці зрізи застосовували для вивчення цитоархітектоники ВЯ. Мікрофотографування зрізів, що містять нейронні популяції ВЯ було проведено з використанням зеленого світлофільтру з полосою пропускання 570-600 нм (Кононкий, 1976).

Кожний непарний зріз після монтування на стекла було оброблено гліцерином. Ці препарати фотографували в прохідному світлі. По фотозображенням було виготовлено графічні карти стовбуру мозку. Для позначення структур було використовано Міжнародну анатомічну номенклатуру 1955 р. (PNA) з доповненнями, опублікованими в наступні роки (Михайлов, 1980). В деяких випадках були застосовані найбільш вживанні позначення, що зустрічаються в анатомічних атласах, монографіях та статтях.

Метод ретроградного аксонного транспорту пероксидази хрону.

Вивчення організації джерел вестибулоспинальних зв'язків здійснено за допомогою методу ретроградного аксонного транспорту пероксидази хрону (ПХ) в модифікації Грехем-Карновські (Graham, Karnovsky, 1966).

Тварин наркотизували калипсолом (50мг/кг, внутрішньом'язево). Унілатеральні ін'єкції 0,5 мкл 30% водного розчину ПХ ("Олайне", Латвійська республіка) здійснювали в сегменти C_1 та Th_{11} спинного мозку. Фермент ін'єкували за допомогою мікрошприцю, зовнішний діаметр голки якого дорівнював 400 мкм. Для більш локального ін'єкування ПХ (0,1 мкл 10% водного розчину) в різні пластини сірої речовини спинного мозгу на рівні C_{3-4} використовувалися шприці, споряджені скляними мікронасадками з діаметром кінчику 60-70 мкм. В усіх дослідах ін'єкції ПХ робили через 5-10 хв після заглиблення кінчику голки або мікроканюлі до тканини мозку. Ін'єкування відбувалося на протязі 10 хв і здійснювалося за допомогою спеціалізованого мікродозатора, який забезпечує рівномірне надходження розчинів. Після закінчення уведення канюля залишалася в тканині мозку ще 30-40 хв. Такий режим перешкоджав проникненню крові та спиномозкової рідини в місце ін'єкції, а також заповненню треку ферментом.

Експозиція становила 72 години. Потім тварину повторно наркотизували із застосуванням нембуталу (50 мг/кг).

Внутрішньосердцева перфузія тварини здійснювалась підігрітим до 25-30°С фізіологічним розчином (0,9% NaCl) з додаванням судинорозширюючих засобів (1% $NaNO_2$) та антиоксиданту (гепарин, 5000 ОД/л) в загальному об'ємі 400 мл. Після промивання судинної системи перфузію проводили фіксуючим розчином (1% формальдегід, 1,25% глютаральдегід на фосфатному буфері 0,1 моль/л, pH 7,4) при температурі 37°С в об'ємі 1000 мл. Тиск перфузуючих рідин в усіх дослідах відповідав величині артеріального тиску у морських свинок та становив 70 мм ртутного стовпчику (Западнюк и др., 1983; Luparello et al).

Після фіксування мозок звільняли з черепної коробки та різали на блоки, які на 12 годин вміщували в фіксуючий розчин, а потім на 24 години в 30% розчин сахарози на фосфатному буфері (0,1 моль/л).

На заморожуючому мікротомі було виготовлено серійні фронтальні зрізи стовбуру мозку товщиною 45 мкм. Після витримування зрізів в трис-HCl буфері (0,1 моль/л, pH 7,4) проводили гістохімічне фарбування нейронів, що акумулювали фермент. Для цього зрізи вміщували на 25-30 хв в розчин 3,3'-діамінобензідіну-тетрахлориду (Chemapol. ЧСФР) з доданням 0,01% перекису водню. Після промивання в воді зрізи монтували на стекла, обезводнювали, просвітлювали в ксилолі та поміщали в канадський бальзам. Виготовлені препарати вивчались під оптичним мікроскопом, обладнаним конденсором темного поля. Нейрони, що акумулювали ПХ, ідентифікували по золотистому світінню на темному тлі. Реєстрування локалізації помічених вестибулярних нейронів проводили на основі раніше виготовлених карт стовбуру мозку з застосуванням двухкоординатного самописця, поєднаного з мікроскопом.

В кожній групі експериментів було розраховано значення щільності локалізації помічених нейронів в ВЯ (кількість клітин на один зріз товщиною 45 мкм) та загальну кількість помічених нейронів досліджуваної популяції. Визначались також середні значення щільності локалізації нейронів в межах фронтального інтервалу 500 мкм, що відповідає одному стереотаксичному рівню (12 послідовних зрізів), а також усереднені значення щільності локалізації нейронів всієї популяції. Статистичну обробку даних та побудову графіків розподілення нейронів по подовжньої осі стовбуру мозку було виконано з застосуванням пакету прикладних

програм ПЕОМ "Нейрон".

Метод кількільсного визначення розмірів нейронів.

Було проведено вивчення кількісних характеристик розмірів нейронів ВЯ, що утворюють проекції до спинного мозку, та нейронів цих же ядер, що таких зв'язків не утворюють. В першому випадку було використано препарати, що містять клітини, помічені за допомогою ретроградного аксонного транспорту ПХ, в другому - препарати, пофарбовані нейтральним червоним.

Для визначення розмірів нейронів було проведено вимірювання повної площі соми та початкових ділянок дендритів. Вимірювання проводилося лише в тому випадку, якщо на зрізі був присутній перикаріон нейрону, контури його профілю були чіткими, а проксимальні дендрити виявлялися на достатньому протязі (до ділянок, де діаметр відростку складав не більше, ніж 0,1 діаметру соми). Площі профілів нейронів вимірювались по їх фотозображенням (загальне збільшення х1200) за допомогою спеціалізованого аналізатору для морфологічних досліджень, що дозволяє отримувати необхідну інформацію безпосередньо в цифровому вигляді. По отриманим значенням площи розраховували умовний діаметр ($Д_{ум.}$), що визначався як діаметр кругу рівновеликого по площі профілю соми та проксимальних дендритів. Математична обробка даних, побудова гістограм розподілення значень $Д_{ум.}$, а також апроксимування їх за допомогою методу поліноміального згладжування виконувалось на ПЕОМ "Нейрон". Ранжування нейронів за значеннями $Д_{ум.}$ проводили відповідно таким, рівням: для дрібних нейронів - 10-20 мкм, середніх - 20-35 мкм, великих - 35-60 мкм, гігантських - 60-80 мкм в діаметрі (Gstoettner, Burian, 1987).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ІХ ОБГОВОРЕННЯ

Структурно-топічна та клітинна будова вестибулярного комплексу.

Одержані в поданому дослідженні дані підтверджують існуюче уявлення (Бродал и др., 1966; Brodal, 1974) про вестибулярний комплекс (ВК) ссавців, як диференційовану ділянку стовбуру мозку, що налічує чотири парних ядра: верхнє, латеральне (Дейтерсу), медіальне, нижнє; та клітинні групи: X, У, I, F. Z, що містяться в безпосередній близькості до вестибулярних ядер.

Практично на всьому протязі ВК латеральні його частини межують з вірьовчатими тілами. Вентральні області ВК контактують з ядром та спинальним трактом трійчастого нерву. З медіальної сторони ВК прилягає до дна та бокової стінки четвертого шлуночку. Дорсальні області ВК в каудальних його ділянках прилягають до поверхні довгастого мозку, а більш ростральо - до білої речовини мозочку.

Згідно розробленої нами системи координат каудальні межі комплексу ВЯ морської свинки диференціються на рівні 3,5 мм позаду міжаурального осі (рівень ростральних формувань обоїдного та латерального ретикулярного ядер) та утворені медіальним та низхідним ВЯ. Ростральні границі ВК визначаються на рівні близько 1 мм попереду міжаурального осі (рівень каудальних ділянок моторного ядра трійчастого нерву) та утворені верхнім та медіальним ВЯ. По фронтальному профілю мозку найбільші розміри ВК знаходяться на рівні входження у мозок волокон вестибулярного нерву (рівень стереотаксичного нуля), тобто в області, де межують три найбільших ВЯ: латеральне, медіальне та низхідне.

Наведений в поданій роботі опис комплексу ВЯ морської свинки в цілому є досить близьким до даних подібних досліджень у інших ссавців (Бродал и др., 1966; Gstoettner, Burian, 1987). Виявлені розбіжності, на нашу думку, є відображенням видових особливостей топічної організації та цитоархітектоніки структур центральної нервової системи у ссавців.

При вивченні цитоархітектоніки ВК встановлено, що клітинний склад ВЯ налічує нейрони дрібних, середніх, великих та гігантських розмірів. В низхідному ВЯ значення $Д_{ум.}$ знаходились у межах від 11,93 до 72,35 мкм, в середньому - $31,83^{\pm}1,26$ мкм (n=110). В медіальному ВЯ було зареєстровані величини $Д_{ум.}$ від 13,52 до 81,81 мкм, в середньому - $38,67^{\pm}1,26$ (n=152). В латеральному ядрі визначені нейрони від 14,31 до 95,4 мкм в діаметрі, в середньому - $50,14^{\pm}1,37$ мкм (n=144). В верхньому ВЯ мінімальне значення $Д_{ум.}$ становило 12,78, максимальне - 34,12 мкм, в середньому - $27,65^{\pm}1,67$ мкм (n=45).

Розрахунки по загальній популяції всіх досліджених ВЯ показали, що найбільш чисельними були нейрони великих (42,84%) та середніх (33,74%) розмірів. Гігантські та дрібні нейрони містилися в менших кількостях, відповідно 11,33 та 8,84% загальної чисельності вивченої популяції. Слід зазначити, що гігантські

нейрони були присутні в медіальному та низхідному ВЯ, а не тільки в латеральному ядрі, як відмічалось раніш (Brodal, 1974).

В нашому дослідженні було вивчено також особливості просторового розподілу нейронів різних розмірів . Показано, що по каудоростральному напрямку стовбуру мозку, тобто від каудальних меж ВК до ростральних границь латерального ВЯ, відносна чисельність нейронів дрібних та середніх розмірів зменшується, а великих та гігантських - збільшується та досягає максимуму на рівні близько 0 мм відносно міжауральної осі, тобто в області,де, як свідчить література (Gacek, 1969), зосереджена більшість терміналей аферентних волокон від периферійних вестибулярних рецепторів. На цьому рівні максимальні кількості великих (55,56%) та гігантських (25,0%) нейронів були визначені в латеральному ВЯ.

Одержані в нашому дослідженні відомості не протирічать сучасним уявленням про закономірності нейронної будови ВК у ссавців (Бродал и др., 1966; Жукова, 1977) та суттєво деталізують їх з кількісної точки зору. Вважається, що такий розподіл відбиває функціональну спеціалізацію різних ділянок ВК, яка забезпечує більш тонке оприйняття та більш швидку та спрямовану передачу інформації від вестибулярних рецепторів до спинного мозку. Ці міркування, на нашу думку, є цілком виправданими. В верхньому ВЯ в поданій роботі були знайдені лише нейрони дрібних та середніх розмірів. Ця обставина становить інтерес в зв'язку з тим, що верхнє ВЯ не утворює низхідних проекцій до спинного мозку, в усякому разі такі проекції не визначені ні в нашому дослідженні, ні, як свідчить наявна література (Wilson, Melvill Jones, 1979), у інших хребетних. Цілком ймовірно, що верхнє ВЯ безпосередньо не залучено до вестибулоспинального контролю рухової активності. Але деякі свідчення (Warwik, 1953; McMasters et al., 1966) дозволяють припустити участь верхнього ВЯ в системі надсегментарної регуляції пози та локомоції, що опосередкована зв'язками цієї структури з мозочком та ядрами окорухового комплексу.

Організація вестибулярних нейронних популяцій, що утворюють проекції до спинного мозку.

Після унілатеральних ін'єкцій ПХ в сегмент Th_{11} спинного мозку (8 експериментів) в межах ВК обох сторін мозку було знайдено в середньому у кожної тварини 136 нейронів , після ін'єкцій в C_1 (8 експериментів) - в середньому 1025 нейронів. Чисельність

вестибулярних клітин, що утворювали неперехресні проекції до рівню C_1 спинного мозку, в середньому складала 724 нейрони, до рівню Th_{11} - в середньому 110 нейронів. Перехресні проекції до рівню верхніх шийних сегментів утворювали в середньому 301 нейрон, а до рівню нижніх грудних - в середньому 26.

Помічені ПХ нейрони були знайдені білатерально в медіальному та низхідному ВЯ, а також в іпсілатеральному до сторони ін'єкції ферменту латеральному ядрі. У кожному з цих ядер зберігалася перевага чисельностей нейронів, що утворювали неперехресні проекції до верхніх шийних сегментів спинного мозку.

Отримані нами дані в цілому відповідають загальним принципам організації вестибулоспинальних систем у ссавців (Brodal, Pompeiano, 1957; Shoen, 1964; Brodal, 1974). Завдяки зв'язкам ВЯ з нейронним апаратом спинного мозгу, що обумовлені існуванням систем прямих низхідних вестибулоспинальних проекцій, збудження периферійних вестибулярних рецепторів, яке виникає при зміні пози або пересуванні в просторі, спричиняє виразні зміни активності скелетних м'язів, спрямовані до підтримання рівноваги та збереження положення голови (Магнус, 1962, Марлинский, Цинцабадзе, 1987, а, б, в; Roberts, 1978).

Вважається, що прямі вестибулофугальні впливи найбільш інтенсивно модулюють активність м'язів шиї, передніх кінцівок та передньої половини тулоба (Магнус, 1962; Wilson, Melvill Jones 1979). Це обумовлено тим, що у більшості ссавців основна маса вестибулоспинальних волокон закінчується в шийних та грудних сегментах спинного мозку (Бродал и др., 1966; Shoen, 1964). Найбільша кількість вестибулярних проекцій, що була знайдена в нашому дослідженні, також була з'орієнтована до верхніх сегментів спинного мозку. Очевидно, відносна низька чисельність вестибулоспинальних зв'язків з каудальними відділами сегментарного апарату корелює з тим, що такі проекції опосередковують впливи менш суттєві в функціональному аспекті, у порівнянні з впливами на шийні сегменти, та забезпечують в основному тільки загальну спрямованість вестибулярних впливів на активність м'язів задніх кінцівок (Марлинский, Цинцабадзе, 1987, в).

Проведений в нашому дослідженні аналіз просторового розподілення вестибулоспинальних нейронів показав, що помічені ПХ клітини були зосереджені в ВК між фронтальними рівнями від 3,0 мм

позаду до 0,75 мм попереду міжаурального осі.

Нейрони низхідного ВЯ утворюють неперехресні та перехресні проекції до спинного мозгу. Середні величини чисельностей популяцій клітин, що мають зазначені проекції, становили відповідно 122 та 92 нейрони (8 експериментів). Обидві популяції були розташовані по всьому об'єму ядра, крім найбільш каудальних його частин на рівні 3,5 мм позаду інтераурального осі. Щільність локалізації нейронів, що утворюють неперехресні проекції, становила в середньому 1,39 од./зріз; нейронів, що утворюють перехресні проекції, - 1,05 од./зріз.

На гістограмах розподілення помічених нейронів обох популяцій низхідного ВЯ по подовжній осі стовбуру мозку було виділено дві групи. В більш ростральних групах, зосереджених в ділянках від нуля до 1,5 мм позаду інтераурального осі, значення чисельності та щільності локалізації були вищими, ніж в каудальних. В ростральній групі іпсілатеральної популяції максимально визначалось до 7-13 од./зріз, контралатеральної - до 4-5. В каудальній групі відповідно - до 4-5 та 1-2 од./зріз.

У медіальному ВЯ також виявлені дві популяції нейронів, що утворюють неперехресні та перехресні проекції до спинного мозку. В зазначених популяціях в середньому було знайдено відповідно 261 та 209 помічених нейронів (8 експериментів). Вестибулоспинальні нейрони були зосереджені в області стовбуру мозку від нуля до 3 мм позаду міжаурального осі, тобто в центральних та каудальних ділянках ядра. В популяції, розташованій іпсілатерально до сторони ін'єкції ферменту, середні значення щільності локалізації досягали 2,98 од./зріз, з протилежної сторони мозку - 2,39 од./зріз.

В кожній популяції аналіз розподілу нейронів дозволив виділити дві групи клітин, серед яких ростральні групи, розташовані від нуля до 1,5 мм позаду міжаурального осі, були найбільш чисельними. В цих ділянках максимальні значення щільності локалізації становили 7,68 од./зріз для іпсілатеральної популяції та 5,68 од./зріз для контралатеральної.

В латеральному ВЯ помічені нейрони (в середньому 341 клітина, 8 експериментів) утворювали тільки неперехресні проекції. Вестибулоспинальні нейрони були розташовані по всьому об'єму ядра, крім найбільш дорсальних його частин. Середнє значення щільності локалізації дорівнювало 4,55 од./зріз, але максимальне, яке

визначалося в області близько 0,5 мм позаду міжаурального осі, досягало 11,28 од./вріз.

При підтриманні пози або під час фіксованих поворотів голови активуються переважно нейрони латерального ВЯ (Wilson, Melvill, Jones, 1979). Як встановлено нашим дослідженням, ця структура утворює більш чисельні, по зрівнянню з іншими ВЯ, проекції до спинного мозку. Це, на нашу думку, забезпечує латеральному ВЯ більш високу долю участі в передачі до спинного мозгу вестибулярної сенсорної інформації та в значній мірі зумовлює прямі полегшуючі впливи на антигравітаційні екстензорні м'язи. Але, оскільки латеральне ВЯ утворює тільки неперехресні спинальні проекції, таким впливам доступні нейрони тільки тієї же сторони мозку. Очевидно, в зв'язку з цим при поворотах морської свинки відносно подовжньої осі відбувається підсилення активності екстензорних м'язів тільки на стороні нахилу (Марлинский, Цинцабадзе, 1987, а). З протилежної сторони при цьому відзначаються реципрокні зміни активності розгинальних м'язів, що пов'язано з послабленням збуджуючих впливів з боку латерального ВЯ, контралатерального нахилу (Марлинский, 1991).

В поданій роботі показано, що просторовий розподіл вестибулярних нейронів, що утворюють проекції до шийних та грудних сегментів спинного мозку, в значній мірі збігається, різниця є тільки кількісною. Встановлено, що до каудальних сегментів спинного мозгу проецюється біля 11% загальної чисельності вестибулоспинальних нейронів, а зосереджені вони в зазначених вище межах. Насамперед це стосується латерального ВЯ, оскільки саме для цього ядра в роботах Бродала та Помпеіано (Brodal, Pompeiano, 1957) була визначена топічна організація вестибулоспинальних зв'язків. Згідно цього принципу нейрони, що утворюють проекції в сіру речовину шийних сегментів, зосереджені в ростровентральній частині ядра, а клітини, пов'язані з поперековими сегментами, - в дорсокаудальних ділянках. В наших дослідах у морської свинки виразні ознаки топічної організації знайдені не були. Це наше твердження є досить близьким до даних сучасної літератури, згідно яких просторовий розподіл нейронів латерального ВЯ детермінований не так жорстко, як уявлялось раніш, а ознаки топічної організації в значній мірі нейтралізуються за рахунок галуження вестибулоспинальних аксонів (Abzug et al., 1974; Rapoport et al.,

1977; Akaike, 1983).

Як вже відмічалося, в наших дослідах встановлено, що вестибулоспинальні нейрони зосереджені в області стовбуру мозку від 3,0 мм позаду до 0,75 мм попереду нульової фронтальної площини, тобто в каудальній та центральній ділянках ВК. При всіх відмінностях в розподіленні помічених нейронів області медіального та низхідного ВЯ, де були встановлені найвищі значення щільності локалізації вестибулоспинальних нейронів, в значній мірі збігалися та знаходилися на відстані 0,5-1,5 мм позаду міжвушної осі. В цій же ділянці зосереджена значна більшість вестибулоспинальних нейронів латерального ВЯ. Враховуючи особливості розповсюдження терміналей первинних аферентних волокон від периферійних вестибулярних рецепторів (Gacek, 1969; Burian et al., 1990) можна припустити, що зазначена область ВК є найбільш функціональна значущою в аспекті забезпечення вестибулоспинального контролю рухової активності.

В нашій роботі показано, що популяції вестибулоспинальних нейронів розташовані не тільки в центральних частинах ВК, як вважалось раніш (Бродал и др., 1966), але і в каудальних його областях, тобто в медіальному та низхідному ВЯ на рівнях 3,0-2,0 мм позаду міжвушної осі. Тут зосереджено до 18% всіх досліджених вестибулоспинальних нейронів. Каудальні популяції ВЯ утворюють білатеральні проекції переважно до шийних сегментів спинного мозку.

Існування таких каудальних вестибулоспинальних популяцій деякий час тому було відмічено в дослідах на кішках, виконаних із застосуванням подібного методу транспортування нейронних мітчиків (Kuypers, Maisky, 1975; 1977; Peterson, Coulter, 1977). В цих дослідах було знайдено, що волоконні системи з каудальних ділянок ВК проходять в дорсолатеральних кантиках та закінчуються більш дорсально, ніж області термінального розподілення латерального та медіального вестибулоспинальних трактів. Термінали вестибулоспинальних аксонів прослідженні впритул до найбільш дорсальних пластин дорсальних рогів (Donevan et al., 1990). З метою диференціювання таких вестибулоспинальних проекцій в морської свинки нами були зроблені обмежені ін'єкції ПХ в дорсолатеральну та вентромедіальну частини сірої речовини верхніх шийних сегментів спинного мозку.

При уведенні ПХ в дорсолатеральну частину сірої речовини для аналізу використовувались дані лише тих експериментів, де зони ін'єкції та дифузії ферменту не поширювалися за межи дорсального рогу та проміжної зони (Brown, 1971; Paxinos, Watson, 1982). При уведенні ПХ в вентромедіальну частину сірої речовини критерієм відбирання даних була локалізація зон ін'єкції та дифузії ферменту в вентромедіальній частині вентрального рогу та вентролатеральному канатику.

Після ін'єкції в дорсолатеральну частину сірої речовини помічені нейрони (в середньому 78 клітин, 8 експериментів) були розташовані білатерально в медіальному та низхідному ВЯ, переважно в каудальних ділянках цих структур на рівні 3,0-1,0 мм позаду міжаурального осі. Крім того, помічені нейрони були виявлені з протилежної сторони мозку в червоному ядрі та глибоких шарах соматосенсорної області лобно-тім'яної кори. В латеральному ВЯ в цих випадках помічені нейрони не були знайдені.

Після ін'єкцій ПХ в вентромедіальну частину сірої речовини переважна більшість нейронів (в середньому 130 клітин, 8 експериментів) була зосереджена в латеральному ВЯ. В червоному ядрі та корі помічених нейронів не було.

Таким чином, нами доведено існування вестибулоспинальних нейронів, проекції яких просторово збігаються з проекціями кортико- та руброспинальних трактів. Зіставлення результатів нашого дослідження з літературними даними свідчать на користь уявлень про більш широке, ніж уявлялось раніше, розподілення вестибулоспинальних волокон в спинному мозку ссавців (Kuypers, Maisky, 1975; 1977; Peterson, Coulter, 1977).

Функції каудальної вестибулоспинальної системи насьогодні залишаються невивченими (Wilson, Melvill Jones, 1979). Але оскільки в наших дослідах встановлений збіг вестибулярних проекцій з областями, що є характерними для рубро- та кортикоспинальних систем, та враховуючи, що в гризунів означені супраспинальні системи закінчуються на нейронах дорсальних рогів та дорсолатеральних частин проміжної зони, що пов'язані з мотонейронами флексорних м'язів, можна припустити, що проекції волоконних систем з каудальних ділянок ВК орієнтовані на тіж самі нейронні групи. Існування таких зв'язків може розглядатися як свідоцтво, що прямі вестибулоспинальні впливи, які забезпечують

регуляцію постурального тонусу, розповсюджуються не тільки на антигравітаційні екстензорні, але і на флексорні м'язи, залучені до здійснення довільних рухів.

Розміри вестибулярних нейронів, що утворюють проекції до спинного мозку.

Аналіз розмірів вестибулоспинальних нейронів дозволив встановити, що в кожному з досліджених ВЯ проекції до спинного мозку утворені нейронами середніх, великих та гігантських розмірів. В низхідному ВЯ неперехресні проекції утворені нейронами, значення $Д_{ум.}$ яких коливалися від 25,97 мкм до 73,14 мкм, в середньому - $48,76 \pm 2,01$ мкм (n=52). Перехресні проекції з цього ВЯ сформовані нейронами від 25,18 до 72,61 мкм в діаметрі, в середньому $48,75 \pm 1,84$ мкм (n=50). В медіальному ВЯ іпсілатерально стороні уведення ферменту були локалізовані нейрони з $Д_{ум.}$ від 28,08 до 78,97 мкм, в середньому - $55,46 \pm 1,85$ мкм (n=55). В цьому ядрі з протилежного боку мозку розміри вестибулоспинальних нейронів коливались від 27,83 до 79,44 мкм, в середньому - $50,76 \pm 1,68$ мкм (n=60). В латеральному ВЯ, що утворює тільки неперехресні проекції, мінімальне значення $Д_{ум.}$ становило 17,53 мкм, максимальне - 85,1 мкм, в середньому - $52,43 \pm 1,2$ мкм (n=116).

Виходячи з розрахунків по сумарній популяції вестибулоспинальних нейронів було встановлено, що найбільш чисельними є популяції великих та гігантських нейронів, відповідно 58 та 28%. Ці дані узгоджуються з існуючими уявленнями про перевагу в складі вестибулоспинальних провідникових систем аксонів найбільш великих нейронів ВЯ (Фанарджян и др., 1975, Ito et al., 1964). Вважається, що аксони великих та гігантських нейронів мають вищі значення швидкостей проведення збудження і більшу кількість синаптичних контактів. Тому наявність великої кількості таких елементів в складі вестибулоспинальних систем сприяє більш ефективній передачі інформації від периферійних вестибулярних рецепторів до спинного мозку.

У ряді досліджень, виконаних переважно на кішках (Brodal, Pompeiano, 1957; Peterson, Coulter, 1977), показано, що великі вестибулоспинальні нейрони зосереджені в більш ростральних ділянках ВК, дрібніші - в його каудальних частинах. Вважається, що такий розподіл обумовлен тим, що у хижаків переважна більшість первинних вестибулярних волокон зосереджена в

ростральних областях латерального ВЯ та прилеглих ділянках медіального та низхідного ВЯ (Gacek, 1969).

Але в наших дослідженнях при вивченні особливостей просторового розподілення вестибулоспинальних нейронів різних розмірів встановлено, що середні значення $Д_{ум.}$ нейронів досліджених ВЯ, локалізованих на різних фронтальних рівнях, були досить близькими. Тобто, як в каудальних так і більш ростральних ділянках ВК морської свинки вестибулоспинальні нейрони різних розмірів розподілені відносно рівномірно. Ці дані корелюють з відомостями (Burian et al., 1990), що у морської свинки, на відміну від кішок, первинні вестибулярні волокна розповсюджені по всьому об'єму кожного з ВЯ, крім найбільш дорсальних ділянок латерального ВЯ. Тому встановлена в нашому дослідженні присутність великих та гігантських вестибулоспинальних нейронів в каудальних областях ВК свідчить про важливість цих зон для безпосередньої передачі активності вестибулярних рецепторів на джерела спинальних проекцій.

В поданій роботі встановлено, що в медіальному, низхідному та латеральному ВЯ більшість (80-90%) вестибулоспинальних нейронів є клітинами великих та гігантських розмірів. Як відомо (Wilson, Melvill Jones, 1979) нейрони медіального та низхідного ВЯ інервують переважно мотонейрони аксіальних м'язів, а активуються головним чином впливами рецепторів півколових каналів. Тому високий відносний вміст великих та гігантських вестибулоспинальних нейронів цих ВЯ, в порівнянні з латеральним ВЯ, дозволяє припустити суттєвість спинальних проекцій з медіального та низхідного ВЯ в забезпеченні реагування скелетних м'язів, що підтримують позу та зберігають положення голови в просторі адекватно припливу сенсорної інформації з вестибулярних рецепторів.

Функціональне значення вестибулоспинальних нейронів різних розмірів ще досить не вивчено (Wilson, Melvill Jones, 1979). Є відомості, що більш дрібні вестибулоспинальні нейрони чутливі до гальмівних впливів з червя мозочку та збуджуючих впливів з боку периферійних вестибулярних рецепторів, що активуються в умовах статичних змін пози (Pompeiano, 1991). Ряд авторів (Nomura et al., 1984; Blessing et al., 1987; Persy et al., 1988; Walberg et al., 1990) вважають, що розміри нейронів та їх функціональна спеціалізація в значній мірі корелюють з набором медіаторів, що

містяться в нервових клітинах. Встановлено (Walberg et al., 1990), що в більш дрібних вестибулярних нейронах присутній, як правило, тільки один медіатор, тоді як в більш великих клітинах можуть знаходитись до двох-трьох (наприклад, ГАМК та гліцин, або гліцин, аспартат та глутамат). Цікаво, що гальмівні медіатори ГАМК та гліцин в найбільш великих кількостях містяться в латеральному ВЯ, яке, як відомо, здійснює на нейрони спинного мозгу полегшуючі вплини. Функціональне значення подібних наборів медіаторів є ще досить невідомим. Можливо співвідношення цих речовин обумовлює різний тип вестибулярних впливів на нейронний апарат спинного мозку, чим забезпечується різноманітність проявів вестибулоспинальних рухових реакцій.

ВИСНОВКИ

1. Вестибулярний комплекс морської свинки складається з чотирох парних ядер: верхнього, латерального, медіального, низхідного, а також з прилеглих до ядер клітинних груп: X, У, Z, I, F. Згідно запропонованої системи стереотаксичних координат каудальні межі вестибулярного комплексу визначаються на відстані 3,5 мм позаду міжаурального осі та утворені медіальним та низхідним вестибулярними ядрами. Ростральні границі вестибулярного комплексу знаходяться на відстані 1,0 мм попереду міжаурального осі та утворені верхнім та медіальним ядром.

2. Клітинний склад вестибулярних ядер налічує нейрони дрібних, середніх, великих та гігантських розмірів з перевагою відносних чисельностей великих та гігантських нейронів. В напрямку від каудальних меж вестибулярного комплексу до ростральних границь ядру Дейтерсу зменшується відносна кількість дрібних та середніх нейронів та збільшується відносна кількість великих та гігантських нейронів. В верхньому вестибулярному ядрі присутні нейрони тільки дрібних та середніх розмірів.

3. Джерелом вестибулярних проекцій до спинного мозку є нейрони медіального, низхідного та латерального вестибулярного ядер. Проекції останнього є найбільш чисельними. В кожному з досліджених ядер переважна кількість вестибулоспинальних нейронів

ЛНБ ім. В. Стефаника
АН України

зосереджена в області стовбуру мозку на відстані від 0 до 1,5 мм позаду міжаурального осі, що відповідає центральній частині вестибулярного комплексу.

4. Латеральне вестибулярне ядро утворює неперехресні проекції до верхніх шийних та нижніх грудних сегментів спинного мозку. Чисельність проекцій до шийних сегментів перевищує чисельність проекцій до грудних сегментів. Топічна організація вестибулоспинальних нейронів цього ядра не виявлена, такі нейрони розташовані про всьому ядру за винятком найбільш дорсальних його областей. Нейрони латерального вестибулярного ядра утворюють проекції в вентромедіальну частину сірої речовини спинного мозку.

5. Медіальне та низхідне вестибулярні ядра утворюють неперехресні та перехресні проекції до спинного мозку. В кожному з цих ядер найбільш чисельними є неперехресні проекції до шийних сегментів у порівнянні з проекціями до грудних сегментів. Вестибулоспинальні нейрони медіального ядра розташовані в каудальній та центральній його областях, в низхідному ядрі - по всій довжині цієї структури.

6. Нейрони медіального та низхідного вестибулярних ядер утворюють проекції в вентромедіальну та дорсолатеральну частини сірої речовини спинного мозку. Проекції в дорсолатеральну частину сірої речовини утворені переважно нейронами каудальних областей цих ядер. Вестибулярні проекції в дорсолатеральну частину сірої речовини просторово збігаються з проекціями кортико- та руброспинальних систем.

7. Нейрони латерального, медіального та низхідного вестибулярних ядер, що утворюють спиномозкові проекції, є клітинами середніх, великих та гігантських розмірів, з чисельною перевагою великих та гігантських нейронів. В каудоростральному напрямку вестибулярного комплексу вестибулоспинальні нейрони різних розмірів розташовані відносно рівномірно.

8. Результати проведеного дослідження підтверджують та суттєво розширюють уявлення про морфо-функціональну організацію вестибулоспинальних систем у ссавців, а також дозволяють зробити висновок, що вестибулярні впливи поширюються не тільки на антигравітаційні екстензорні м'язи, здійснюючи тонічну регуляцію систем підтримання рівноваги, але і на флексорну мускулатуру, забезпечуючи контроль довільних рухів.

Список опублікованих робіт за темою дисертації.

1. Василенко Д. А., Войтенко Л. П., Вуттиг У., Мюллер М. Сравнительные размеры проприоспинальных нейронов различных структурно-функциональных групп у кошки // Нейрофизиология.- 1984.- 16, N 2.- С. 238-247.
2. Войтенко Л. П. Источники вестибулоспинальных проекций у морской свинки // Регуляция сенсомоторных функций / Труды Всесоюзного симпозиума. Винница, 1989.- С. 38.
3. Войтенко Л. П. Структурная организация системы вестибулоспинального контроля соматических и вегетативных реакций // Нейрогуморальные механизмы регуляции висцеральных органов и систем / Труды Всесоюзной научной конференции. Томск, 1989.- С. 148.
4. Войтенко Л. П. Вестибулярные ядра морской свинки: структурная и топическая организация // Нейрофизиология.- 1990.- 22, N 5.- С. 650-657.
5. Войтенко Л. П. Пространственная организация вестибулоспинальных нейронов морской свинки // Нейрофизиология.- 1991.- 23, N 3.- С. 353-362.
6. Войтенко Л. П. Сравнительный анализ размеров вестибулоспинальных нейронов у морской свинки // Нейрофизиология.- 1991.- 23, N 5.- С. 616-624.
7. Войтенко Л. П. Организация вестибулоспинальных систем у позвоночных // Нейрофизиология.- 1992.- 24, N 2.- С. 215-238.
8. Войтенко Л. П., Марлинский В. В. Стереотаксический атлас ствола мозга морской свинки // Нейрофизиология.- 1993.- 25, N 1.- С. 52-76.

Заказ 777 Тир. 60 экз. 1993 г. Укрполиграфпроект

465595

Ав 27.485