

УДК 612.83

С. Г. Єфанова, О. А. Шугуров, О. О. Шугуров
Дніпропетровський національний університет

ДОСЛІДЖЕННЯ ЗМІН ПОТЕНЦІАЛІВ СПИННОГО МОЗКУ ТВАРИН У ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ВІКУ

На кішках вивчали потенціали дорсальної поверхні (ПДП) спинного мозку (СМ) у залежності від віку тварини. З'ясовано, що перший негативний (N_1) компонент ПДП є найбільш стабільним по амплітуді та динамічних характеристиках для усіх вікових груп. Компоненти, пов'язані з роботою полісинаптичних нейронів, та особливо з пресинаптичним гальмуванням, були більш варіабельні та нестійкі при повторних та тривалих подразненнях для дуже молодих або старих тварин. Робиться припущення, що такий характер змін потенціалів пов'язаний зі зменшенням кількості нейронів при старінні та розбудовою синаптичних утворень – при дорослішанні. Вірогідно, що по формі ПДП можливо оцінити ступінь старіння мозку або його окремих ланок.

Research of changes of cord dorsum potentials (CDP) of spinal cord (SC) of depending on age in cats. It is shown, that the first negative component of CDP is most stable on amplitude and dynamic characteristic for all age-group. Components of CDP, which were connected to work of polysynaptic neurones and especially with presynaptic inhibition showed large variables and instability at a repeated or long-term stimulation for very young or old animals. We assume, that the specified character of changes of potentials is connected to change of an effective performance of neurones in a brain.

Після стабілізації розвитку мозку у теплокровних тварин подальший розвиток ЦНС може йти тільки за рахунок або розвитку нових зв'язків між нейронами [6], або вмикання в роботу нейронів, що раніше мовчали чи були неактивними елементами [12], або змін положення нейронів усередині мозку.

Перший шлях характеризується додатковим розростанням термінальних закінчень як на рівень своїх мішеней, так і на нові об'єкти, що раніше ними не активувалися. Теоретично такий шлях можливий лише до певної межі, коли вся поверхня дендритів і соми нейрона цілком не покриваються синаптичними закінченнями. Проте надалі при загибелі деяких нейронів, що залишилися, останні можуть пророщувати свої термінали у нові точки, але тільки на ті місця, що звільнилися. Таким чином, до певних меж старіння (рівня природної загибелі нейронів) нервова система може не проявляти ознак явної деградації.

Другий спосіб стабілізації функцій ЦНС може здійснюватися за рахунок залучення в активність раніше неактивних нейронів або синапсів. Такі нервові елементи («мовчазні нейрони») мають зв'язки з іншими нейронами, проте ці шляхи з тих або інших причин не діють [12]. У той же час, при загибелі деяких (вірогідно сусідніх) елементів зазначені структури «пробуджуються» і беруть на себе частину утрачених функцій по обробці інформації. Фактично такі нервові клітини не змінюють просторового розповсюдження своїх термінальних закінчень, але змінюють функціональний стан. Після активізації такі елементи, мабуть, можуть також розвивати нові напрямки активності за принципом, описаним вище.

Зазначені факти необхідно враховувати при аналізі в першу чергу нормального або патологічного стану та старіння центральної [2; 9] або периферичної [13] нервових систем. Якщо в останньому випадку об'єктивно змінюється чисельність та ефективність роботи нейронів та їх взаємопов'язаних груп, це повинно призвести й до змін потенціалів мозку, що генеруються такими групами. Тому

© Єфанова С. Г., Шугуров О. А., Шугуров О. О., 2005

метою роботи було вивчення залежності змін, що відбуваються на рівні вхідних механізмів спинного мозку, від віку досліджуваного об'єкта.

Методика

Для проведення досліджень впливу віку на діяльність спинного мозку в експериментах були використані тварини (кішки) різного віку (від неонатального до синільного). Такий підхід був обраний з наступної причини. З однієї сторони, усі системи спинного мозку людини і кішки близькі за розташуванням і функціями. З іншої – часові рамки життя кішок значно менші, ніж людини, тому відслідковувати зазначені процеси на цих тваринах простіше. Наприклад, генетичні експерименти зручніше проводити на мишах, оскільки вже за один рік може змінитися декілька поколінь контрольних тварин. Аналогічні розміркування були взяті до уваги й у наших дослідженнях, проведених на 24 кішках різноманітного віку – від 0,5 місяця до 6–9 років. За стандартною методикою реєстрували ПДП, стимулювали суміжні нерви *n. tibialis*, *n. peroneus communis*, або шкірні *n. surae plantaris*. Для виявлення розходжень у формі ПДП та їх параметрів використовували статистичні методи оцінки достовірності змін відповідей. Після дослідів проводили евтаназію шляхом передозування наркозу.

Результати

Для вивчення змін потенціалів мозку в залежності від віку використовували перевірені методики, що добре відбивають функціонування основних груп інтернейронів спинного мозку. Раніше було вивчено характер масових потенціалів дорсальної поверхні (ПДП) спинного мозку (СМ), компонентний склад ПДП та ті процеси, що породжують такі компоненти [3–5; 8]. Оскільки спинний мозок цілком відповідальний за соматичну рухову систему, то і зміни масових потенціалів мозку сполучаться зі змінами в руховій активності кінцівок. Крім того, по змінах ПДП можна вивчати і зміни у вісцеральних системах [1], що також зазнають суттєвих вікових змін.

У одній групі дослідів вивчали зміни розміру ПДП і ДКП при зміні сили подразнення у різних за віком тварин (рис. 1). Силу стимуляції зазначених вище периферичних нервів змінювали від 1 до 3–5 порога (в данному випадку за один поріг приймали значення, що відповідає початку прояву першого негативного (N_1) компонента ПДП).

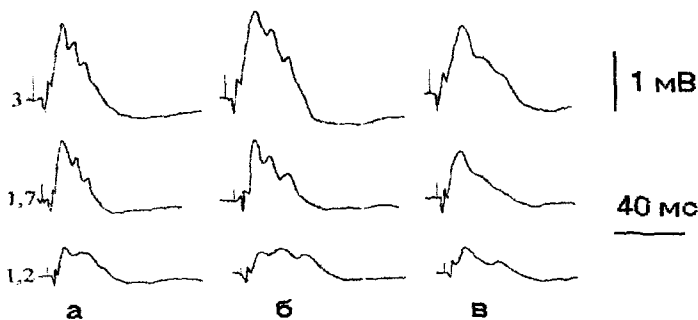


Рис. 1. Зміни ПДП при різних силах подразнення шкірного нерва SUR у тварин різних вікових груп

а – тварина віком 0,5 міс; б – 36 міс; в – 75 міс. Цифри біля осцилограм – сила подразнення у порогох (П). Калібровка за амплітудою та за часом дана одна для усіх осцилограм. Приведено типові дані 3 дослідів

Знайдено, що збільшення сили стимуляції нерва в будь-якому випадку викликає підвищення амплітуди як першого негативного (N_1), так другого і третього (N_2 , N_3) компонентів ПДП (рис. 1). Проте інтегральні значення компонентів, такі як латентність, швидкість досягнення максимуму, істотно змінюються.

У молодих тварин (рис. 1, а) амплітуда N_1 -компонента дещо нижча, ніж у дорослих (б), але вища ніж у старих тварин (рис. 1, в). Зниження сили подразнення веде до зміни форми всіх ПДП. При малій силі подразнення периферичного нерва (1,15–1,3 П) у осіб середнього віку спостерігається картина, коли пізні негативні компоненти ПДП уже достатньо зростають на фоні невеличкого N_1 -компонента. Схожі зміни спостерігаються й у молодих тварин (рис. 1, а).

У старих тварин N_2 та N_3 -компоненти проявляються досить слабо (рис. 1, в). Це може бути пов'язане зі зниженням роботи полісинаптичних інтронеуронів відносно моносинаптичних, що утворюють N_1 -компонент. Тому, в цілому, зменшення N_1 -компонента сполучається з невеличким зростанням пізніх негативних компонентів, що можна пояснити як незначним розгальмовуванням із боку N_1 , так і ослабленням Р-хвилі на малий імпульс. Форма ДКП і Р-хвилі ПДП змінюється в залежності від віку зразка ще більш помітно. Це виражається в суттєвому зменшенні (до 50% щодо середнього віку) цього показника для старих осіб. У той же час Р-хвиля у молодих осіб дещо менша (на 5–8%) ніж у осіб середнього віку. Ця різниця краще помітна в молодому віці (1–2 доби), але при дорослішанні вона нівелюється.

Основні тенденції росту розміру масових соматосенсорних потенціалів СМ значні при аналізі кривих зміни амплітуди відповіді від розміру прикладеного стимулу (рис. 2). Графіки показують, що в цілому тенденції розвитку потенціалів не змінюються від віку, проте окремі моменти мають місце. Наприклад, найшвидкіше (крутий характер зростання) зростають амплітуди ПДП у молодих тварин. Більш положистий – у дорослих тварин середнього віку. Найменш крута характеристика відзначена для старих особин.

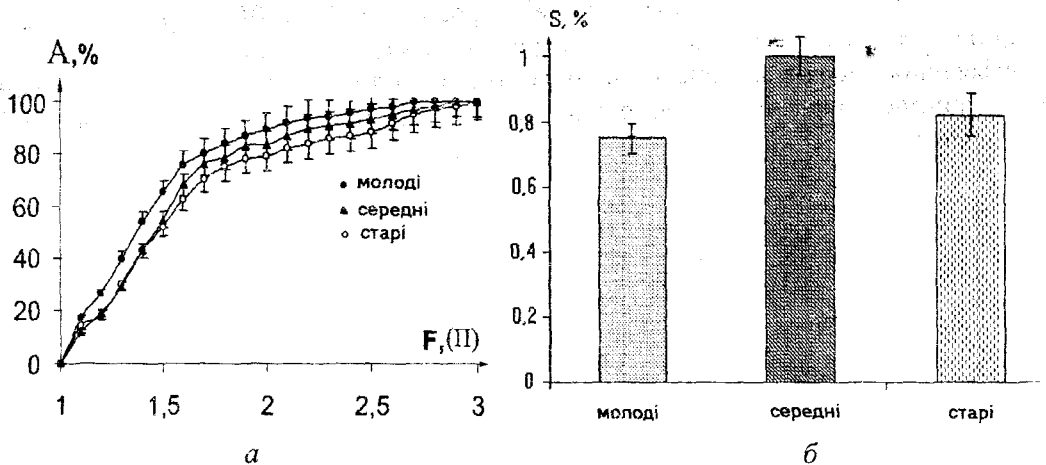


Рис. 2. Параметри потенціалів спинного мозку в залежності від віку тварин

Подразнення силою 3 П завдавали на *n.tibialis*: а – графік зміни амплітуди N_1 -компонента від сили подразнення зазначеного нерва; б – сумарна «площа потенціалу» (S) N_2 та N_3 -компонентів відносно N_1 -компонента для тих же вікових груп

Звертає на себе увагу факт незначної зміни переднього фронту зазначеного компонента: зі збільшенням віку спостерігається невеличкий зсув максимуму (на 0,5–1,5 мс) у бік заднього фронту сигналу. Виділення інтегративного показника – площі під променем ($V\Delta t$) – показало, що максимальне значення спостерігається для дорослих особин, мінімальне – для старих.

Гальмівні механізми, що регулюють основні соматосенсорні інформаційні потоки на вході спинного мозку можна вивчити, використовуючи методику парних стимулів (рис. 3). При цьому характер гноблення другої за рахунком тестової відповіді буде відбивати основну тенденцію розвитку гальмівних систем у часі.

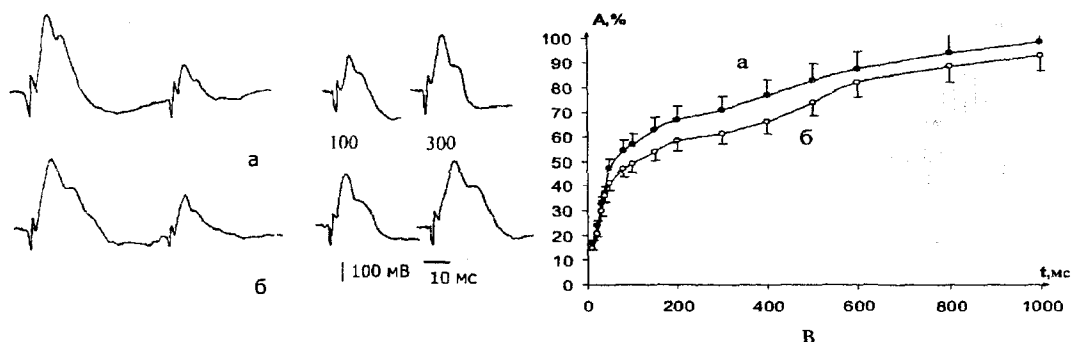


Рис. 3. Зміни ПДП при використанні парної стимуляції

Осцилограми (а, б) – ПДП, зареєстровані в старих (б) і тварин середнього віку (а) при стимуляції *p. peroneus communis* із силою ЗП парними імпульсами. Цифри – період між імпульсами (мс). Перші потенціали рядів – відповіді на кондиціонуючі стимули, в – графік змін амплітуди N_1 -компонента ПДП від інтервалу між парними стимулами при активації *n. tibialis* (крива а – тварини середнього віку, б – старі, показано середньоквадратичні відхилення)

У наших експериментах проводили парні подразнення основних периферичних нервів у тварин різного віку з метою порівняння ефективності роботи аналогічних регуляторних систем. На підставі осцилограм (рис. 3) очевидно, що в старих тварин розмір тест-реакції перевищує на 5–10% аналогічні значення для середнього віку. Ця тенденція посилюється в міру збільшення інтервалу часу між імпульсами, починаючи з 200 мс і закінчуючи інтервалом у 1000 мс. На малих інтервалах часу різниці в поведінці регуляторної системи майже немає.

Криві гальмування тестових відповідей в описаних дослідах подані на рис. 3, в. Варто сказати, що зазначене (відносне) збільшення потенціалів на тестуючий стимул у старих тварин йде на фоні загального зменшення розміру відповідей як на кондиціонуючі стимули, так і на тестуючі відповіді (рис. 2, а, б). Як бачимо, тривалість гальмування в старих тварин істотно менша (на 15–20%) тривалості такого для тварин середнього віку. Одночасно глибина гальмування також змінюється – у міру старіння вона зменшується до 70% від максимальних значень, властивих цьому процесу. У молодих тварин (1,5–3 міс) характер гноблення потенціалу на тестуючий стимул подібний із таким для тварин середнього віку (графік не показаний). Проте в молодих тварин глибина гальмування також дещо знижена (на 10–12%).

Потужність і ефективність роботи всіх елементів регуляції спинного мозку добре перевіряються за допомогою методу ритмічної стимуляції. Через те, що на

вхід системи подається тривале збудження, система змушена включати в роботу спеціальні резервні механізми підтримки власної активності. Ми здійснювали стимуляцію шкірних і м'язових нервів із частотами від 1 до 100 Гц (при силі ЗП и тривалістю 0,3 мс). Результати типового досліді подані на рис. 4.

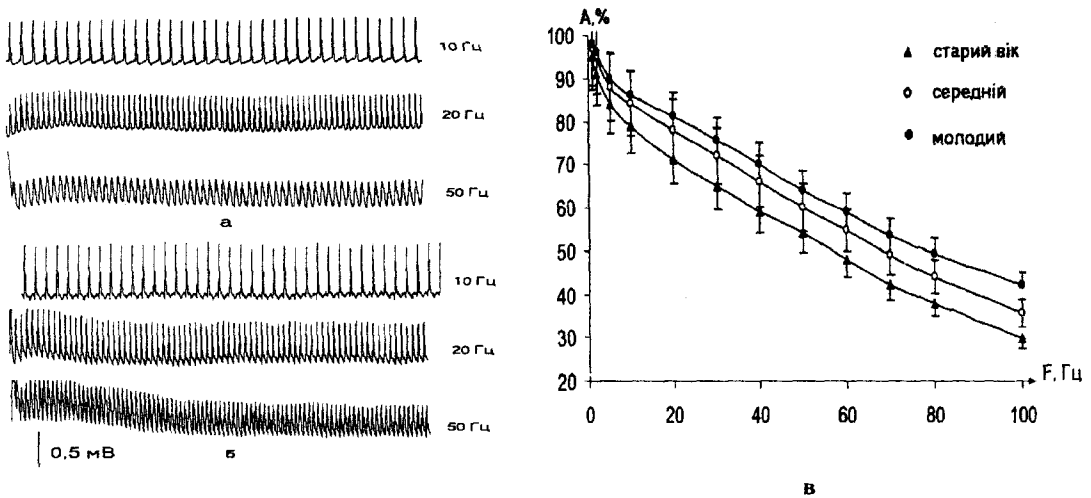


Рис. 4. ПДП при ритмічній стимуляції периферичних нервів у тварин різних вікових груп

Осцилограми: а – старі тварини; б – тварини середньої вікової групи. Калібрівка амплітуди дана одна для усіх реєстрацій. в – графік зміни амплітуди «стабілізованих» N_1 -компонентів ПДП від частоти стимуляції для тварин різного віку. Усереднені дані восьми дослідів. Стимулювали *n.peroneus communis* із силою ЗП

З дослідних даних можна побачити, що при частотному подразненні в дорослих тварин у нормі відбувається стабілізація відповідної реакції на постійному, що залежить від частоти, рівні. У випадку застосування ритмічної стимуляції оцінювали зміни амплітуди N_1 -компонента ПДП на перші 30–50 відповідей пачки. Із зростанням частоти рівень стабілізованих відповідей падає. Графіки зміни «стабілізованих» потенціалів від частоти подразнення нерва для різноманітних груп тварин подані на рис. 4.

У тварин середнього віку після початкового перехідного процесу відбувається стабілізація на достатньо високому рівні, причому для шкірних нервів (сенсорних) рівень стабілізації дещо (на 5–8%) нижчий, ніж для м'язових нервів. У молодих тварин, особливо у неонатальних, рівні стабілізації для N_1 -компонента для шкірних нервів та для м'язових нервів практично однакові (рис. 4).

У той же час у старих тварин зазначений рівень для шкірних входів практично дорівнює рівню для м'язових аферентів, а в деяких випадках навіть вище останнього. Це виражається (рис. 4, в) у вигляді збільшення розкиду середньоквадратичного відхилення на високих частотах стимуляції для шкірних входів. Крім того, при великій частоті стимуляції у старих особин початкова стабілізація відповідей якщо і відбувається, все одно відзначається поступове подальше зниження відповідей.

Обговорення та висновки

У деяких роботах проводився аналіз процесів спинного мозку нормальних та хворих людей [7] з епідуральним відведенням потенціалів. У даному випадку

висхідний стан мозку оцінювався по малюнку сумарної активності нейронів у даній області. Дані свідчать, що при малих змінах рівень активності у цілому залишався відповідним до активності «здорових» шарів. Проте із збільшенням числа патологій амплітуда сумарного потенціалу зменшувалася, сумарний ЗПСП розмивався у часі та просторі. При досягненні деякої граничної кількості розривів сумарна активність нейронної мережі прагне до нуля. У цьому випадку вхідні імпульси до виходу не доходять. Таким чином, при процесах, що відбуваються в умовах зменшення кількості активних нейронів у мозку, повинен зменшуватися сумарний потенціал, що відбиває процеси обробки сенсорної інформації як на вході, так і на виході мозку.

Треба враховувати і те, що при старінні також зменшується швидкість проведення потенціалів дії у периферичному нерві, що показано на кішках та щурах [10; 13]. Також змінюється ефективність роботи рецепторного апарата.

З проведених гострих досліджень випливає, що потенціали мозку у тварин різного віку відрізняються за багатьма параметрами. По-перше, змінюється амплітуда потенціалів при стимуляції периферичних нервів. По-друге, на спінальному рівні відбувається певна десинхронізація залпової активності інтернейронів, що відбивається як розмиття головних компонентів сигналів та зсуви максимумів у напрямку збільшення їх латентності. В той же час величина стабілізованого сигналу на ритмічну стимуляцію для старих тварин зменшується. Всі випадки змін ПДП можна також пов'язати як зі зменшенням кількості нейронів у СМ (що веде до зменшення амплітуди потенціалів у різних серіях дослідів), так і зменшенням швидкості проведення сигналів по нерву. В останньому випадку це призводить до значного непогодження часу активації нейронів однієї групи, наслідком чого і є вказана десинхронізація.

Така зміна для старих тварин може бути пов'язана зі зменшенням кількості нейронів у відповідних регуляторних ланцюгах. Відповідно загибель навіть одного полісинаптичного нейрона веде до переривання передачі сигналів у всьому ланцюгу від аферентних входів до мотонейронів. Відповідно моносинаптичні шляхи, за рахунок масового дублювання, менш вразливі до загибелі кожного нейрона, тому і компонент, утворений такими нейронами, більш стабільний. У молодих тварин з розвитком рухів іде розростання та подальше диференціювання синаптичних кінцівок, що призводить до збільшення частини ПДП, пов'язаного з пізніми полісинаптичними компонентами.

Результати досліджень показали, що вікові зміни на рівні СМ проявляються у вигляді:

- а) зменшення амплітуди викликаних потенціалів СМ, вірогідно за рахунок зменшення чисельності живих нейронів;
- б) зменшення рівня пізніх компонентів ПДП відносно першого моносинаптичного компонента (ланцюги моносинаптичних нейронів більш стабільні у роботі, ніж полісинаптичні);
- в) розмивання максимумів компонентів спинномозкових потенціалів за рахунок зменшення швидкості проведення потенціалів дії у аферентних волокнах.

Таким чином, приведені показники (компоненти ПДП) можливо використовувати для аналізу потенціалів мозку людей або тварин різного віку. Вірогідно, що по формі цього потенціалу можна оцінити ступінь старіння спинного мозку або його окремих ланок.

Бібліографічні посилання

1. **Ефанова С. Г.** Электрические проявления соматических и висцеральных взаимодействий в спинном мозге / С. Г. Ефанова, О. А. Шугуров, О. О. Шугуров // Днепр. гос. ун-т. – Днепропетровск, 1990. – 150 с. – Библиогр. 215 назв. – Рус. Деп. в ВИНТИ 03.10.90 N5229-B90.
2. **Маньковский Н. Б.** Центральные механизмы развития двигательных нарушений при старении человека / Н. Б. Маньковский, И. Н. Карабань, Е. А. Мяловицкая // Физиол. журн. – 1990. – 36, № 5. – С. 62–70.
3. **Шугуров О. А.** Исследование стабильности потенциалов дорсальной поверхности, вызванных одиночными и парными раздражениями афферентного нерва // Нейрофизиология. – 1970. – Т. 2, № 1. – С. 10–16.
4. **Шугуров О. А.** Об изменениях позитивной волны потенциала дорсальной поверхности спинного мозга под влиянием кондиционирующих раздражений афферентного нерва // Научн. докл. высш. школы. (Биол. науки). – 1970. – № 9. – С. 30–34.
5. **Applebaum A. E.** Organization and receptive fields of primate spinothalamic tract neurons / A. E. Applebaum, J. E. Beall, R. D. Foreman, W. D. Willis // J. Neurophysiol. – 1975. – Vol. 38, № 3. – P. 572–586.
6. **Bennet M. R.** Statistical analysis of the release of acetylcholine at newly formed synapses in striated muscle / M. R. Bennet, T. A. Florin // J. Physiol.(L). – 1974. – Vol. 238, № 1. – P. 93–107.
7. **Caccia M. R.** Spinal evoked responses recorded from the epidural space in normal and diseased human / M. R. Caccia, E. Vbicelli, L. Andreussi // J. Neurol. Neurosurg. Physiat. – 1976. – Vol. 39. – P. 962–972.
8. **Cuddon P. A.** Assessment of dorsal nerve root and spinal cord dorsal horn function in clinically normal dogs by determination of cord dorsum potentials / P. A. Cuddon, A. J. Delauche, J. M. Hutchison // Am J Vet Res. – 1999. – Vol. 60, № 2. – P. 222–226.
9. **Huang Y.** Морфологические изменения возрастных особенностей ЦНС крысы: изменение с возрастом синаптических структур черной субстанции / Y. Huang, Jai-Ji. Hou, Z. Duan // Dong-wu xuebao – Acta zool. Sin. – 1994. – Vol. 40, № 2. – P. 169–173.
10. **Khalil Z.** Effects of ageing on sensory nerve function in rat skin / Z. Khalil, V. Relevic, M. Bassirat, G. J. Disting, R. D. Helme // Brain Res. – 1994. – Vol. 641, № 1–2. – P. 265–272.
11. **Magladery J. W.** Electrophysiological studies of nerve and reflex activity in normal man / J. W. Magladery, D. B. Mc Dougal // Bull. Johns Hopk Hosp. – 1951. – P. 125–138.
12. **Mark R.** Are there silent synapses? / R. Mark, T. Lono // Trends Biochem. Sci. – 1978. – Vol. 3, № 9. – P. 12.
13. **Pillai S. R.** Age-related changes in peripheral nerve conduction velocities of cats / S. R. Pillai, J. E. Steiss, J. C. Wright // Prog Vet Neurol. – 1991. – Vol. 2. – P. 95–104.

Надійшла до редакції 20.02.05