

ВРЕМЕННАЯ СТРУКТУРА ИМПУЛЬСАЦИИ СПИНАЛЬНЫХ МОТОНЕЙРОНОВ КОШКИ В УСЛОВИЯХ РЕАЛИЗАЦИИ СТРЕТЧ-РЕФЛЕКСА

Поступила 17.06.10

Анализировали характеристики импульсной активности, отводимой внутриклеточно от мотонейронов *mm. gastrocnemius+soleus* децеребрированной кошки и вызываемой контролируемым растягиванием данной мышечной группы. Длительные (30 мин и более) достаточно качественные (мембранный потенциал – МП – не менее –50 мА в течение всего периода регистрации) отведения были получены от 17 мотонейронов. Растягивание мышц (синусоидальные полуволны разной амплитуды и их комбинации) позволяло получать хорошо воспроизводимые последовательности импульсов без существенных изменений МП покоя исследуемых мотонейронов. У 14 из них была обнаружена достоверная корреляция между нормированными вариациями мгновенной частоты следования предшествующего и последующего потенциалов действия (ПД), т. е. значительная вероятность чередования высоких и низких значений указанного параметра. Такая же тенденция (к чередованию высоких и низких значений) наблюдалась у последовательных величин следовой гиперполяризации (СГ), сопровождающей ПД. Между значениями экстремумов траекторий СГ и величинами мгновенной частоты импульсации отмечалась значимая негативная корреляция. Обсуждаются механизмы формирования СГ в спинальных мотонейронах и влияния параметров этой гиперполяризации на характеристики импульсной активности, генерируемой данными клетками.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: мотонейроны, стретч-рефлекс, мембранный потенциал, импульсная активность, межимпульсные интервалы, следовая гиперполяризация.

ВВЕДЕНИЕ

Спинальные мотонейроны часто используются как объекты исследования характеристик вызванной импульсной активности центральных нейронов. Часто такую активность вызывают, пропуская деполяризующий ток через внутриклеточный микроэлектрод. Подобная стимуляция, однако, приводит к снижению способности нейронов генерировать потенциалы действия (ПД) в результате аккомодационных процессов, индуцированных действием постоянного стимула, и возникновению нестационарных изменений мембранного потенциала (МП) [1–3]. В последние годы были разработаны методические подходы, которые позволили в острых экспериментах на децеребрированных животных осуществлять длительное устойчивое внутриклеточное отведение от спинальных мотонейронов в условиях естественной адекватной стимуляции моносинаптических возбуждающих входов путем механического растягивания гомонимных мышц [4–6]. Сложность таких исследований связана с тем, что качественная регистрация МП мотонейронов возможна только в случае особо жесткой фиксации положения спинного мозга относительно отводящего микроэлектрода и отсутствия механических колебаний. Если такие условия обеспечивались, появлялась возможность на основе реальных записей изменений МП, вызванных стандартными подпороговыми и надпороговыми растягиваниями мышц, провести модельный анализ особенностей суммации на мембране мотонейронов большого числа синаптических потенциалов, вызванных адекватной механостимуляцией, и тонких механизмов преобразования изменений МП в импульсную активность [7].

В предыдущей работе мы представили результаты количественного анализа особенностей изменений МП в импульсную активность [7].

В предыдущей работе мы представили результаты количественного анализа особенностей изменений

¹ Институт физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины, Киев (Украина).

Эл. почта: lytvynenko_80@mail.ru (С. В. Литвиненко).

ния одного из главных параметров, определяющих характеристики импульсации мотонейронов, – порога генерации ПД – в зависимости от степени активации нейрона в условиях контролируемых механических воздействий на мышцу и реализации стретч-рефлекса [8]. Ряд фундаментальных механизмов функционирования системы данного рефлекса остаются все еще недостаточно изученными. Общие характеристики этого важного рефлекса подробно описаны на макроуровне [9], но детали синаптической активации мотонейронов в условиях реализации упомянутого рефлекса, количественная оценка факторов, которые влияют на характеристики импульсной активности, генерируемой данными нейронами в таких условиях, требуют дальнейшего исследования.

Поэтому мы продолжили количественный анализ частотных характеристик активности спинальных мотонейронов децеребрированных кошек, вызванной адекватной стимуляцией рецепторов растяжения гомонимных мышц, обращая особое внимание на влияние амплитудных и временных параметров следовой гиперполяризации (СГ), которая сопровождает генерацию ПД, на мгновенную частоту в последовательностях этих импульсов.

МЕТОДИКА

Эксперименты были проведены на четырех животных. Под кетамин-ксилазиновым наркозом осуществляли ламинэктомию на поясничном уровне и препарировали мышцы правой задней конечности. Трехглавую мышцу голени (*mm. gastrocnemius + soleus* – GS) осторожно выделяли из окружающих тканей, сохраняя кровоснабжение. Ахиллово сухожилие отделяли от дистального места прикрепления вместе с небольшим фрагментом пяточной кости (для последующего соединения с механостимулятором). Все нервы правой задней конечности, кроме тех ветвей, которые иннервируют GS, перерезали. После операции животное переносили в стереотаксический станок с системой жесткой фиксации позвоночника, головы и конечностей; после вскрытия костей черепа осуществляли децеребрацию на интерколликкулярном уровне. Бедренную и большеберцовую кости правой задней конечности жестко фиксировали металлическими стержнями, что обеспечивало качественную им-

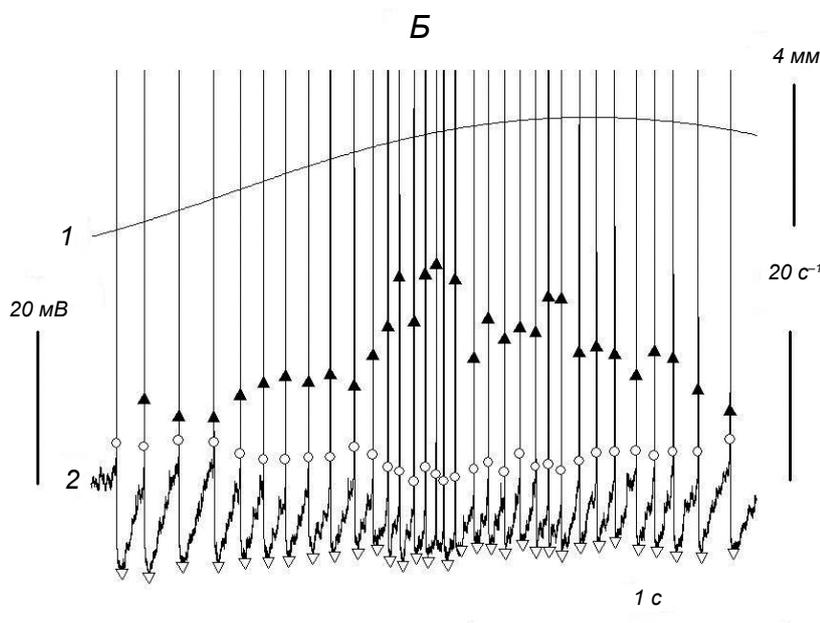
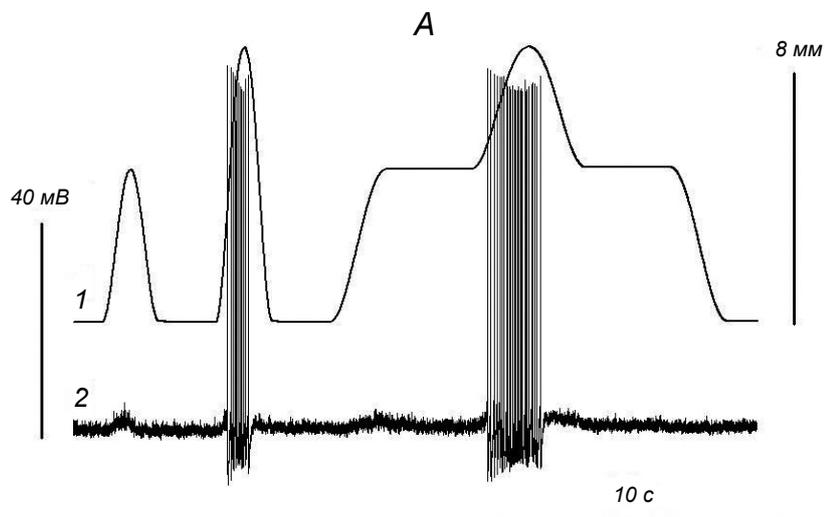
мобилизацию коленного сустава. Температуру тела животного и ванночек на раневых поверхностях, заполненных вазелиновым маслом, в течение опыта поддерживали на уровне 37.5 °С.

Растягивание мышцы производили с помощью сервоуправляемого механостимулятора. Программа стимуляции включала в себя две синусоидальные полуволны различной амплитуды и синусоидальное растягивание, сходное по форме с двойной трапецией (рис. 1, А, I). Подобный характер адекватной механостимуляции позволял вызывать деполяризацию мембраны исследуемого мотонейрона с различной интенсивностью; средний уровень фаз такой деполяризации был ниже или выше порога генерации ПД. Во всех экспериментах длина GS при наибольшем растягивании была на несколько миллиметров меньше той, которая соответствовала состоянию максимального сгибания лодыжки. Растягивание мышцы рассматривалось как источник моносинаптического возбуждения мотонейронов в условиях активации мышечных веретен.

Реакции отдельных мотонейронов отводили внутриклеточно стеклянными микроэлектродами, которые представляли собой микропипетки, заполненные 0.6 М раствором K_2SO_4 и имеющие сопротивление 1.5–4.5 МОм. Сигналы от микроэлектрода записывали по постоянному току с использованием усилителя Axoclamp 2A (“Axon Instruments”, США).

Для записи уровня МП и ПД мотонейронов, длины мышцы, кровяного давления и меток стимуляции использовали устройство ввода-вывода CED Power 1401 (“Cambridge Electronic Design”, Великобритания), соединенное с персональным компьютером. Выходные каналы CED Power генерировали командные сигналы для механостимулятора.

Для записи и дальнейшей обработки данных применялась программа “Spike 2” (“Cambridge Electronic Design”, Великобритания). Входящие сигналы оцифровывались при частотах $1.667 \cdot 10^4 \text{ с}^{-1}$ для ПД и 10^3 с^{-1} для мышечной длины. Полученные данные анализировали с помощью программ “Spike 2” и “Origin 8.0” (“OriginLab Corp.”, США). Специальные программы для расчета мгновенной частоты и других параметров нейронной активности дополнительно были написаны на языке С; наибольшие (по модулю) значения МП при развитии СГ после ПД определяли с применением соответствующей программы поиска экстремумов в непрерывном сигнале (“Origin 8.0”).



Р и с. 1. Пример регистрации импульсной активности мотонейрона *mm. gastrocnemius+soleus* в условиях стретч-рефлекса, вызываемого контролируемым растягиванием этой мышечной группы. *A* – изменения мембранного потенциала мотонейрона (2) в ходе различных фаз растягивания мышцы (1). *Б* – участок регистрации импульсной активности мотонейрона, представленной на *A*, при большем усилении. Дополнительно нанесены значения измеряемых параметров – порога генерации потенциала действия (кружки), мгновенной частоты импульсации (темные треугольники) и экстремумов (максимумов амплитуды) следовой гиперполяризации (светлые треугольники).

Р и с. 1. Приклад реєстрації імпульсної активності мотонейрона *mm. gastrocnemius+soleus* в умовах стретч-рефлексу, викликаного контрольованим розтягуванням цієї м'язової групи.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Длительные достаточно высококачественные внутриклеточные отведения от спинальных мотонейронов децеребрированной кошки в условиях механостимуляции мышц голени (дозированного растягивания *GS*) были возможны, если механическая фиксация люмбосакрального отдела позвоночного столба и, соответственно, люмбосакральных сегментов спинного мозга оказывалась достаточно жесткой на протяжении всего периода регистрации. Из всего количества успешных внутриклеточных отведений от мотонейронов *GS* для

анализа были отобраны лишь 17 случаев, в которых МП покоя исследуемых клеток на протяжении всего времени исследования (30 мин и более) превышал -50 мВ.

Использованный вид механостимуляции (растягивание в форме относительно медленных синусоидальных полувольт, без резких “рывков”) снижал вероятность ухудшения качества отведений в результате смещений ткани спинного мозга. Протокол механостимуляции (два эпизода растягивания в виде полувольт различной амплитуды и одинаковой длительности и комбинация полувольт с участками стационарного промежуточного уровня рас-

тягивания, подобная двойной трапеции) позволял получить участки стойкого сверхпорогового синаптического возбуждения мотонейронов с генерацией серий ПД в ответ на растягивание мышцы в случаях превышения порога генерации (рис. 1, А). Подобная вызванная импульсная активность обычно демонстрировала хорошую повторяемость при стандартных раздражениях; это давало возможность объединять реализации, полученные в ходе идентичных тестов, для последующей статистической обработки.

Амплитуда первой одиночной полуволны и промежуточного уровня “двойной трапеции” почти во всех наших тестах составляла 4.9, а амплитуда второй полуволны и максимума “двойной трапеции” – 8.8 мм. В большинстве случаев (15 мотонейронов) влияние растягивания GS на 4.9 мм оказывалось подпороговым, и серии ПД возникали лишь в ответ на приложение второй (большей) одиночной полуволны и верхней полуволны “трапеции”. Пороговая интенсивность растягивания GS , обуславливающая генерацию стойких разрядов мотонейронов, для большинства клеток варьировала от 5 до 7 мм, и лишь в двух мотонейронах растягивания на 4.9 мм (первая полуволна) вызывали генерацию одного – трех ПД.

Необходимо отметить два существенных обстоятельства. Во-первых, уже упоминалось, что приложение первой, меньшей, волны растягивания (амплитудой 4.9 мм), как правило, не вызывало генерации ПД. То же можно сказать и в отношении первой фазы растягивания (той же амплитуды) в ходе “двойной трапеции”. Приложение второй одиночной полуволны, однако, начинало приводить к появлению разрядов мотонейронов при растягивании заметно менее 4.9 мм (рис. 1, А). Таким образом, порог генерации ПД зависел не только от амплитуды, но и от скорости растягивания. Напомним, что две одиночные полуволны механостимуляции имели разные амплитуды, но одинаковые длительности, и вторая полуволна отличалась почти вдвое большей крутизной нарастания и спада.

Во-вторых, значения амплитуд растягивания GS , при которых начинался вызванный разряд мотонейронов и при которых он прекращался, значительно отличались друг от друга. Это было хорошо заметно в ходе приложения как одиночной высокоамплитудной полуволны, так и верхней полуволны “двойной трапеции”. Импульсация мотонейрона прекращалась в случае значительно больших значений растягивания GS , чем пороговые значения возникновения разряда (рис. 1, А). Таким образом,

в условиях использованного протокола стимуляции отчетливо проявлялись гистерезисные свойства рецепторов растяжения и, соответственно, нелинейная зависимость интенсивности возбуждающего синаптического действия на мотонейрон, обусловленная нелинейной зависимостью частоты разрядов мышечных веретен от длины мышцы (зависимостью от направления изменения этой длины).

В настоящих экспериментах в условиях достаточно высококачественного внутриклеточного отведения от спинальных мотонейронов были получены хорошо воспроизводимые последовательности ПД, генерируемых указанными клетками в результате адекватной стимуляции возбуждающих синаптических входов – рецепторов растяжения гомонимных мышц. В ходе анализа этих последовательностей мы измеряли значения мгновенной частоты таких ПД и (на основе результатов регистрации МП) величины порога генерации данных импульсов и значения экстремумов траектории МП в ходе СГ (максимумов ее амплитуды). Все упомянутые величины сопоставлялись с изменениями длины мышцы, подвергаемой механостимуляции (растягиванию) (рис. 1, Б).

Мгновенная частота следования ПД для первого из них в серии принималась нулевой, а для последующих определялась как величина, обратная межимпульсному интервалу (МИИ) после предше-

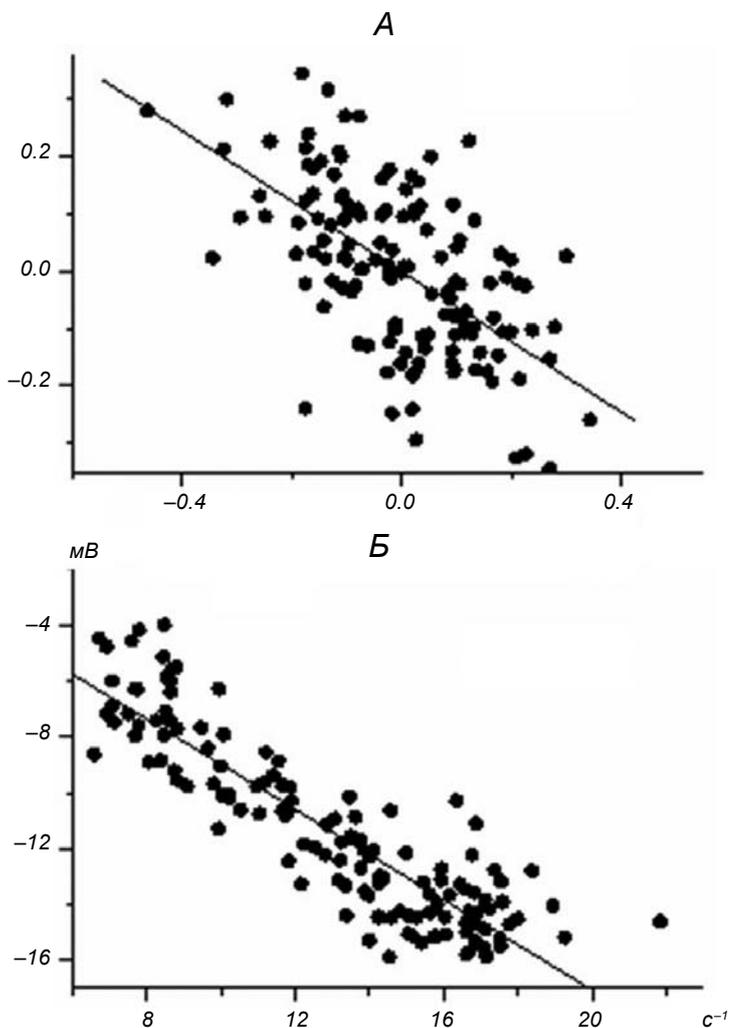
ствующего ПД, т. е. $F_i(t_i) = \frac{1}{t_i - t_{i-1}}$, где t_{i-1} – вре-

мя генерации предыдущего ПД. Средние значения мгновенных частот вызванной импульсации мотонейрона в пределах проанализированных серий ПД варьировали от 12.9 ± 3.6 до 21.7 ± 8.5 с⁻¹ ($M \pm s.d.$). Из рис. 1 видно, что растягивание мышцы сопровождалось ростом значений мгновенной частоты ПД, хотя при этом наблюдалась существенная вариативность последовательных величин данного параметра (Б).

Чтобы количественно проанализировать указанный феномен, мы использовали относительные значения вариаций частоты в промежутке от предшествующего ПД ($i - 1$) до «текущего» ПД (i), нормируя эти изменения относительно средней частоты для двух последовательных МИИ, т. е.

$F_i^{\text{norm}} = \frac{F_i - F_{i-1}}{(F_i + F_{i-1})/2}$. На рис. 2, А приведен пример

зависимости между последовательными нормиро-



Р и с. 2. Анализ параметров импульсной активности, вызванной в мотонейроне растягиванием *mm. gastrocnemius+soleus*.

А – зависимость между нормированными изменениями мгновенной частоты ($\Delta F_i^{\text{ном}} - \frac{F_i - F_{i-1}}{(F_i + F_{i-1})/2}$) последовательных

потенциалов действия (ПД), зарегистрированных в одном мотонейроне в ходе повторных эпизодов стимуляции. Нижний индекс показывает отношение данного параметра к текущему (*i*, ось абсцисс) или последующему (*i+1*, ось ординат) ПД. Наличие статистически значимой обратной связи между указанными параметрами (использовали ANOVA linear fitting; $n = 139$, $k = -0.6117$, $F = 78.62$; $P < 0.001$). *Б* – корреляция между значениями мгновенной частоты последовательных ПД (ось абсцисс) и экстремумов (максимумов амплитуды) следовой гиперполяризации в том же мотонейроне (ось ординат); амплитуда измерялась относительно значений порога генерации ПД. Наличие значимой отрицательной связи между указанными параметрами ($n = 139$, $k = -0.615$, $F = 442.1$; $P < 0.001$).

Р и с. 2. Аналіз параметрів імпульсної активності, викликані в мотонейроні розтягуванням *mm. gastrocnemius+soleus*.

ванными изменениями частоты $\Delta F_n(i)\{\Delta F_n(i+1)\}$ у одного из мотонейронов. У 14 из 17 исследованных мотонейронов между этими параметрами выявлялась статистически достоверная ($P < 0.05$) обратная связь, что свидетельствует о значительной вероятности чередования высоких и низких значений данного параметра при генерации последовательных ПД большей частью исследованных клеток (см. таблицу, графы 3, 4). В то же время существенная часть точек группировались в области нуля, что указывало на практическое отсутствие различий значений «соседствующих» мгновенных частот для такой части. Следует подчеркнуть, что экстремумы (максимальные амплитуды) СГ демонстрировали в принципе такую же тенденцию – чередование высоких и низких значений в ходе генерации последовательных ПД. Относительные изменения экстремумов СГ в интервале между по-

следовательными ПД, рассчитываемые аналогично нормированным изменениям мгновенной частоты, свидетельствовали о наличии статистически значимой обратной связи также у 14 нейронов исследованной группы (не иллюстрировано; см. таблицу, графы 5, 6).

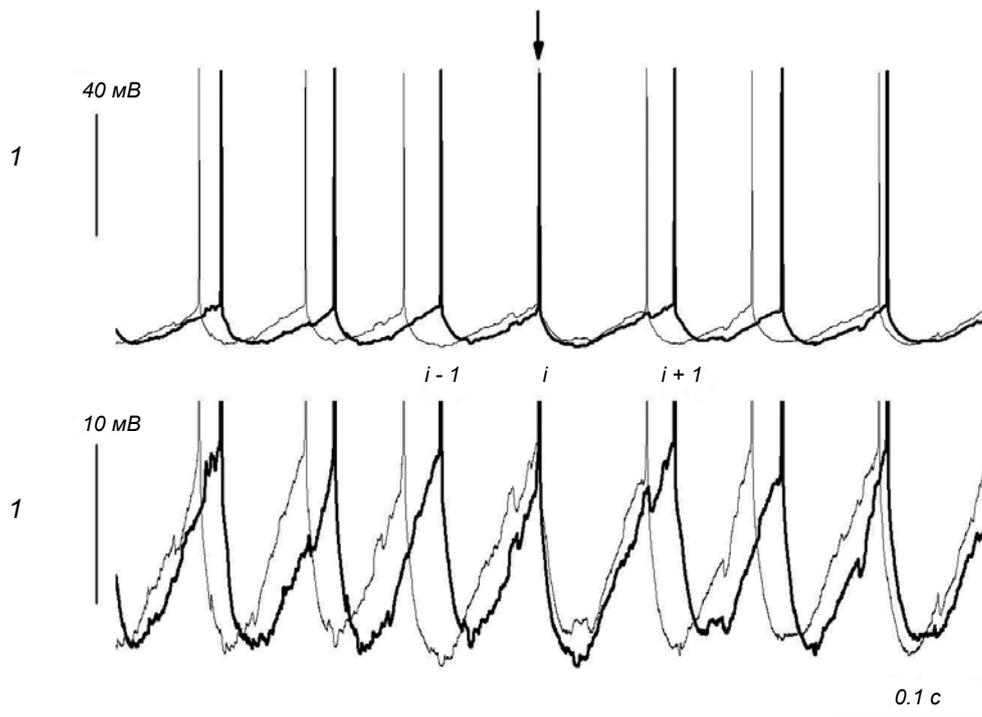
Для выявления факторов, которые определяют вариации мгновенных частот последовательных ПД, генерируемых мотонейронами при растягивании гомонимной мышцы, мы определяли статистическую зависимость значений экстремумов траектории СГ и мгновенной частоты импульсации. У 10 из исследованных нейронов была обнаружена статистически значимая негативная зависимость между этими параметрами (рис. 2, *Б*), а у большинства остальных мотонейронов проявлялась достаточно отчетливая аналогичная тенденция, но не достигающая уровня значимости (см. таблицу).

Результаты статистического анализа импульсной активности, вызванной в мотонейронах растягиванием трехглавой мышцы голени

Результати статистичного аналізу імпульсної активності, викликаной в мотонейронах розтягненням триголового м'яза литки

№	Мгновенная частота ($M \pm \sigma$, c^{-1})	Наклоны линий регрессии (k) для зависимостей					
		между текущими и последующими значениями отклонений мгновенных частот	P	между амплитудами следовой гиперполяризации после текущего и последующего потенциалов действия	P	между значениями мгновенной частоты и амплитуды следовой гиперполяризации	P
1	13.12±2.18	-0.4664	0.0179	-0.5962	0.0055	-0.4813	0.0320
2	14.00±1.86	-0.3642	0.0323	-0.6235	0.0033	-0.4315	0.0033
3	13.00±2.18	-0.3036	0.0183	-0.4123	0.04666	-0.2574	0.0315
4	18.01±4.50	-0.6475	<0.001	-0.3289	0.0116	-0.4917	0.0174
5	16.50±4.28	-0.4692	0.0109	-0.4182	0.0335	-0.1235	0.0247
6	18.02±5.37	-0.5762	0.0012	-0.5920	<0.001	-0.0600	0.0820
7	16.14±5.07	-0.5592	0.0126	-0.3106	0.0224	-0.1020	0.0105
8	18.82±7.17	-0.0669	0.0268	-0.2136	0.0469	-0.0880	0.1720
9	21.70±7.51	-0.4661	0.0163	-0.4765	0.0160	-0.0314	0.3820
10	13.27±1.72	-0.6590	0.0016	-0.4040	0.0322	-0.2710	0.0243
11	13.09±3.45	-0.4631	<0.001	-0.4149	<0.001	-0.1583	<0.001
12	13.63±4.59	-0.6630	<0.001	-0.4583	<0.001	-0.0860	0.2666
13	12.91±3.55	-0.6116	<0.001	-0.4554	<0.001	-0.6150	<0.001
14	14.17±6.39	-0.6077	<0.001	-0.4350	<0.001	-0.3226	<0.001

Примечание. Значения наклонов линии регрессии k по отношению к оси абсцис и вероятности нулевой гипотезы P были получены при использовании ANOVA linear fitting.



Р и с. 3. Совмещение (отмечено стрелкой) предшествующего ($i - 1$, толстая линия) и текущего (i , тонкая линия) потенциалов действия на участке импульсной активности мотонейрона.

2 – тот же фрагмент, что и 1, но при большем усилении. Демонстрация непостоянства величин соседних межимпульсных интервалов (МИИ), связанного с различиями процессов суммации следовой гиперполяризации в пределах последовательных МИИ.

Р и с. 3. Суперпозиція (відмічено стрілкою) попереднього ($i - 1$, товста лінія) та поточного (i , тонка лінія) потенціалів дії на ділянці імпульсної активності мотонейрона.

ОБСУЖДЕНИЕ

Стретч-рефлекс, или рефлекс на растягивание мышцы, основан преимущественно на моносинаптическом возбуждении мотонейронов при активации мышечных веретен (рецепторов растяжения) гомонимной мышцы. Сегментарные дуги данного рефлекса фактически представляют собой цели обратной связи, обеспечивающие стабилизацию длины мышц и, в частности, предотвращение чрезмерного растягивания последних в ходе локомоции и/или поддержания позы. Участие длиннопетлевых рефлекторных дуг в реализации стретч-рефлекса в нашем сообщении не рассматривается.

В условиях описанных экспериментов растягивание *GS* вызывало деполяризацию мембраны гомонимных мотонейронов кошки. Если деполяризация становилась достаточно интенсивной и превышала пороговый уровень, мотонейроны начинали генерировать ПД. Растягивание мышцы представляет собой адекватный путь активации мотонейронов. В то же время большая часть исследований вызванной импульсной активности центральных нейронов были проведены ранее с использованием искусственной деполяризации их мембраны, путем пропуска соответствующего тока через внутриклеточный микроэлектрод [2, 3, 10]. Следует признать, что в таких работах практически невозможно точно определить реальный уровень МП в конкретном мотонейроне при разных значениях интенсивности тока. Это, естественно, приводит к существенным ошибкам в оценке ряда параметров вызванной активности мотонейронов. В наших же экспериментах повторные идентичные растягивания мышцы позволяли внутриклеточно отводить микроэлектродом вызванную импульсную активность отдельного мотонейрона в течение достаточно длительного времени без значительных изменений функциональных характеристик данной клетки, прежде всего уровня МП покоя.

Для выявления конкретных факторов, влияющих на генерацию ПД мотонейроном при растягивании мышцы, мы анализировали изменения мгновенной частоты последовательных ПД и форму траектории СГ.

Растягивание мышцы приводило к увеличению мгновенных частот разряда, что, однако, сопровождалось заметной вариативностью их последовательных значений. Нормирование последовательных значений частот относительно их среднего значения в пределах пары МИИ и определение кор-

реляции данных последовательных значений показало наличие отрицательной зависимости между упомянутыми величинами (рис. 2, *A*). Это указывает на отсутствие постоянства мгновенной частоты и большую вероятность чередования высоких и низких значений названного параметра при генерации последовательных ПД. В то же время значительная часть точек соответствующих корреляционных полей группировались в области нуля, что свидетельствует об отсутствии в таких случаях различий в значениях соседних частот. Такой же феномен был обнаружен и для экстремумов (максимумов негативности) соседних траекторий СГ. Выявленная в нашей работе параллельность вариаций мгновенной частоты последовательных ПД и экстремальных значений СГ (*B*) дает основания полагать, что чередование относительно коротких и длинных МИИ, соответствующих высоким и низким мгновенным частотам, скорее всего связано с процессами суммации СГ после генерируемых ПД [11–13]. Если МИИ, предшествующий данному ПД, короче некоторого среднего значения, то последующая СГ, естественно, будет несколько увеличена благодаря суммации с более существенным “хвостом” предыдущей СГ, в результате чего следующий МИИ удлиняется [14]. На рис. 3 представлено совмещение (отмечено стрелкой) траекторий предшествующего ($i - 1$, толстая линия) и текущего (i , тонкая линия) ПД на участке импульсной активности мотонейрона. Хорошо видно, что пары длительности последовательных МИИ заметно различаются – после короткого МИИ между ПД $i - 1$ и i следует более длинный МИИ $i \dots i + 1$.

На суммацию СГ [12] в значительной степени влияют изменения кальцийзависимой калиевой проводимости [13–16]. СГ, сопровождающая генерацию ПД спинальным мотонейроном, представляет собой сложный процесс. Прежде всего, он определяется собственными свойствами плазматической мембраны мотонейрона, в частности изменениями упомянутой кальцийзависимой калиевой проводимости через соответствующие ионные каналы [13–16]. Увеличение внутриклеточного уровня Ca^{2+} в результате его входа при генерации повторных ПД с повышенной частотой приводит к большей активации упомянутых кальцийзависимых калиевых каналов и возрастанию тока через них. Это обуславливает некоторое повышение амплитуды СГ и (вероятно) изменение ее временного течения. Конечным результатом является увеличение длительности последующего МИИ, т. е. умень-

шение мгновенной частоты следования импульсов мотонейрона. Если же в последовательности ПД встречается увеличенный МИИ, последовательность событий и их результат будут обратными.

Развитие СГ в спинальных мотонейронах, однако, обусловлено не только собственными свойствами мембраны; ее генез связан и с активными тормозными синаптическими процессами, зависящими от действия системы возвратного (рекуррентного) торможения. Как известно, выходной импульс, генерируемый мотонейроном, не только поступает к мышечным волокнам-целям, но и через аксонные коллатерали возбуждает тормозные клетки Реншоу, аксоны которых, в свою очередь, устанавливая тормозные синаптические связи с мотонейроном и его «соседями», замыкая, таким образом, цепи отрицательной обратной связи [17]. Рекуррентное торможение отчетливо выражено в условиях синхронной электрической стимуляции волокон спинальных вентральных корешков или двигательных нервов [18]. В условиях реализации стретч-рефлекса, вызванного адекватной стимуляцией рецепторов растяжения, оценить относительный вклад системы рекуррентного торможения в создание СГ после разряда мотонейрона затруднительно, но несомненно, что влияние этой системы увеличивает амплитуду и длительность следового гиперполяризационного потенциала после генерации ПД спинальным мотонейроном. Данные нашего предыдущего исследования [7] позволили заключить, что влияние тормозных постсинаптических процессов на формирование реальных траекторий МП в условиях реализации стретч-рефлекса может быть достаточно заметным. Вклад системы рекуррентного торможения в формирование постактивационных изменений МП в мотонейроне, очевидно, существенно возрастает при значительных уровнях мышечного растягивания [18].

Ряд авторов [22–25] подвергли рассмотрению вопрос, каким именно образом вероятностные параметры флуктуаций возбудимости нейрона влияют на распределения МИИ. В случаях анализа образцов стационарной импульсной активности, в которых практически отсутствует статистическая зависимость между значениями последовательных МИИ, формализация проблемы сводится к постановке задачи об определении времени первого пересечения графика стационарного случайного процесса детерминированной временной кривой. Детерминированную временную зависимость эти авторы трактовали как совокупность

разностей между усредненными значениями порога генерации ПД и траекториями изменений МП в пределах МИИ (т. е. между соседними ПД), а случайный процесс – как недетерминированные флуктуации МП нейрона, зависящие от случайных причин. Если флуктуации МП вызываются в основном асинхронной активацией большого количества независимых синаптических входов с небольшим весом, то временное течение изменений МП может быть достаточно хорошо описано гауссовским случайным процессом. Так, случайные колебания МП спинальных мотонейронов, к которым, как известно, поступает активность от очень большого количества спинальных и надсегментарных нейронов, характеризуются гауссовским распределением амплитуд и экспоненциальной корреляционной функцией. Поэтому можно полагать, что чередование высоких и низких значений частоты, обнаруженное в нашей работе, не может определяться гауссовским случайным процессом. Не исключено, что данный феномен заметно влияет на генерацию усилия мышцей, и такой паттерн активации мышцы может отличаться от эффектов регулярной последовательности импульсов с постоянной частотой, соответствующей ее среднему значению.

В последующие годы стали появляться работы, в которых авторы, применяя фармакологическое блокирование различных проводимостей мембраны и компьютерное моделирование, установили, что прогрессирующее снижение мгновенных частот в условиях постоянного сверхпорогового раздражения (т. е. адаптационный процесс) связано преимущественно с изменениями натриевых трансмембранных токов [26, 27]. Именно постепенное ослабление быстро инактивирующейся натриевой проводимости является основным фактором, ответственным за адаптационное урежение последовательных ПД мотонейронов спинного мозга мышей [24]. Однако следует отметить, что работы этих авторов были проведены с использованием искусственной деполяризации мембраны, при которой возбуждение линейно зависело от инъецируемого тока. ПД генерировались с высокой частотой (70–100 с⁻¹), не свойственной естественной импульсации мотонейрона, а длительность анализируемых последовательностей ПД была небольшой. В нашей работе в качестве источника деполяризации мембраны мотонейрона применялось растягивание мышцы с «физиологичными» параметрами, а частота генерируемых ПД не достигала 30 с⁻¹. Следует полагать, что в таком случае условия формирова-

ния устойчивых вызванных разрядов мотонейрона были значительно более адекватными. В этой связи необходимо упомянуть вывод о том, что при относительно низких частотах импульсации нейронов (менее 30 с^{-1}) основное влияние на характеристики последовательностей ПД оказывает не адаптация, а именно ограничение частоты, налагаемое процессом СГ [16, 18]. Последний, как уже отмечалось, в значительной степени определяется активацией калиевых токов, прежде всего, через кальцийзависимые каналы SK-типа. Именно СГ в основном обуславливает максимальные частоты генерации ПД при относительно низких уровнях активации мотонейронов, в определенном смысле “устраняя” инактивацию натриевых каналов и ослабляя последующее адаптационное снижение частоты разрядов [16, 29]. Эти данные согласуются с результатами работы, проведенной с использованием компьютерного моделирования [30].

Таким образом, применение «физиологичной» адекватной стимуляции (растягивания мышцы) в качестве источника активации спинальных мотонейронов позволило ограничить влияние адаптационного уменьшения частоты их выходного разряда с течением времени. Обнаруженное при этом непостоянство значений мгновенной частоты, вероятно, связано с вариабельностью процессов СГ, обеспечиваемых в мотонейроне в основном кальцийзависимыми калиевыми трансмембранными токами. СГ, видимо, представляет собой фактор, ограничивающий эффекты чрезмерного растягивания мышц. При высокочастотном же возбуждении мотонейрона в условиях искусственной интенсивной деполяризации мембраны нейронов в результате внутриклеточной электрической стимуляции роль адаптационных изменений импульсных последовательностей вследствие подавления быстро инактивирующейся натриевой проводимости, очевидно, достаточно существенна. В условиях естественной деятельности соответствующий феномен может иметь отношение к центральным механизмам развития усталости при мышечных сокращениях, приводящих к длительным и/или интенсивным изменениям длины мышц.

С. В. Литвиненко¹

ЧАСОВА СТРУКТУРА ІМПУЛЬСАЦІЇ СПІНАЛЬНИХ МОТОНЕЙРОНІВ КОТА В УМОВАХ РЕАЛІЗАЦІЇ СТРЕТЧ-РЕФЛЕКСУ

¹Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ (Україна).

Резюме

Аналізували характеристики імпульсної активності, відведеної внутрішньоклітинно від мотонейронів *mm. gastrocnemius+soleus* децереброваного kota та викликані контрольованим розтягуванням даної м'язової групи. Тривалі (30 хв і більше) досить якісні (мембранний потенціал – МП – не менше –50 мВ протягом усього періоду реєстрації) відведення були отримані від 17 мотонейронів. Розтягування м'язів (синусоїдальні напівхвилі різної амплітуди та їх комбінації) дозволяло отримувати добре відтворювані послідовності імпульсів без істотних змін МП спокою досліджуваних мотонейронів. У 14 з них була виявлена вірогідна негативна кореляція між нормованими варіаціями миттєвої частоти у послідовностях попереднього та наступного потенціалів (ПД), тобто значна вірогідність чергування високих і низьких значень вказаного параметра. Така ж сама тенденція (до чергування високих і низьких значень) спостерігалась у послідовних величин слідової гіперполяризації (СГ), що супроводжувала ПД. Між значеннями екстремумів траєкторій СГ і величинами миттєвої частоти імпульсації відмічалась значна негативна кореляція. Обговорюються механізми формування СГ у спинальних мотонейронах і впливи параметрів цієї гіперполяризації на характеристики імпульсної активності, генеруємої даними клітинами.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. W. H. Calvin, “Three modes of repetitive firing and the role of threshold time course between spikes,” *Brain Res.*, **69**, 341-346 (1974).
2. P. C. Schwindt and W. E. Crill, “Factors influencing motoneuron rhythmic firing: results from a voltage-clamp study,” *J. Neurophysiol.*, **48**, 875-890 (1982).
3. R. K. Powers and M. D. Binder, “Experimental evaluation of input-output models of motoneuron discharge,” *J. Neurophysiol.*, **79**, 367-379 (1996).
4. J. F. Perrier, B. L. D'Incamps, N. Kouchtir-Devanne, et al., “Effects on peroneal motoneurons of cutaneous afferents activated by mechanical or electrical stimulations,” *J. Neurophysiol.*, **83**, No. 6, 3209-3216 (2000).

5. L. Brizzi, L. H. Ting, and D. Zytnicki, "Positive proprioceptive feedback elicited by isometric contractions of ankle flexors on pretibial motoneurons in cats," *J. Neurophysiol.*, **88**, 2207-2214 (2002).
6. I. Kostyukov, L. A. Bugaychenko, I. Kalezic, et al., "Effects in feline gastrocnemius-soleus motoneurons induced by muscle fatigue," *Exp. Brain Res.*, **163**, No. 3, 284-294 (2005).
7. I. Kostyukov, S. V. Lytvynenko, N. V. Bulgakova, et al., "Subthreshold activation of spinal motoneurons in the stretch-reflex – experimental data and modeling," *Biol. Cybernetics*, **100**, 307-318 (2009).
8. I. Kostyukov, S. V. Lytvynenko, N. V. Bulgakova, et al., "A diverse pattern of the spike threshold changes in feline gastrocnemius-soleus motoneurons during stretch reflex activation," *Exp. Brain Res.*, **203**, No. 4, 711-722 (2010).
9. А. И. Костюков, *Динамические свойства двигательной системы млекопитающих*, ФАДА, ЛТД, Киев (2007).
10. D. Kernell, "High-frequency repetitive firing of cat lumbosacral motoneurons stimulated by long-lasting injected currents," *Acta Physiol. Scand.*, **65**, 74-86 (1965).
11. M. Ito and T. Oshima, "Temporal summation of after-hyperpolarization following a motoneurone spike," *Nature*, **195**, 910-911 (1962).
12. F. Baldissera and B. Gustafsson, "Regulation of repetitive firing in motoneurons by the afterhyperpolarization conductance," *Brain Res.*, **30**, 431-434 (1971).
13. F. Baldissera and B. Gustafsson, "Firing behaviour of a neurone model based on the afterhyperpolarization conductance time course and algebraic summation. Adaptation and steady state firing," *Acta Physiol. Scand.*, **92**, 27-47 (1974).
14. F. Baldissera and B. Gustafsson, "Adaptation in a simple neuron model compared to that of spinal motoneurons," *Brain Res.*, **52**, 382-384 (1973).
15. P. Sah, "Ca²⁺-activated K⁺ currents in neurons: types, physiological roles and modulation," *Trends Neurosci.*, **19**, No. 4, 150-154 (1996).
16. F. Viana, D. A. Bayliss, and A. J. Berger, "Multiple potassium conductances and their role in action potential repolarization and repetitive firing behavior of neonatal rat hypoglossal motoneurons," *J. Neurophysiol.*, **69**, No. 6, 2150-2163 (1993).
17. J. C. Eccles, "The mechanism of synaptic transmission," *Ergebn. Physiol.*, **51**, 299-430 (1961).
18. U. Windhorst, "Shaping static elbow torque-angle relationships by spinal cord circuits: a theoretical study," *Neuroscience*, **59**, No. 3, 713-727 (1994).
19. D. V. Madison and R. A. Nicoll, "Control of the repetitive discharge of rat CA1 pyramidal neurones *in vitro*," *J. Physiol.*, **354**, 319-331 (1984).
20. R. S. Person and L. P. Kudina, "Discharge frequency and discharge pattern of human motor units during voluntary contraction of muscle," *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, **32**, 471-483 (1972).
21. J. C. Rekling, G. D. Funk, D. A. Bayliss, et al., "Synaptic control of motoneuronal excitability," *Physiol. Rev.*, **80**, 767-852 (2000).
22. D. Kernell and H. Sjöholm, "Repetitive impulse firing: comparison between neurone models based on 'voltage clamp equations' and spinal motoneurons," *Acta Physiol. Scand.*, **87**, 40-56 (1973).
23. P. C. Schwindt and W. E. Crill, "Effects of barium on cat spinal motoneurons studied by voltage clamp," *J. Neurophysiol.*, **44**, 827-846 (1980).
24. S. Hagiwara, "Analysis of interval fluctuations of the sensory nerve impulse," *Jap. J. Physiol.*, **4**, No. 2, 234-240 (1954).
25. F. Blake and W. C. Lindsay, "Level-crossing problem for random processes," *IEEE Trans. Inform. Theory*, **19**, No. 3, 295-315 (1973).
26. W. H. Calvin and C. F. Stevens, "Synaptic noise and other sources of randomness in motoneuron interspike intervals," *J. Neurophysiol.*, **31**, No. 5, 574-587 (1968).
27. I. Kostyukov, "Curve-crossing problem for Gaussian stochastic processes and its application to neural modeling," *Biol. Cybern.*, **29**, No. 2, 187-191 (1978).
28. A. Fleidervish, A. Friedman, and M. J. Gutnick, "Slow inactivation of Na⁺ current and slow cumulative spike adaptation in mouse and guinea-pig neocortical neurones in slices," *J. Physiol.*, **493**, Part 1, 83-97 (1996).
29. V. Melnick, S. F. Santos, and B. V. Safronov, "Mechanism of spike frequency adaptation in substantia gelatinosa neurones of rat," *J. Physiol.*, **559**, Part 2, 383-395 (2004).
30. G. B. Miles, Y. Dai, and R. M. Brownstone, "Mechanisms underlying the early phase of spike frequency adaptation in mouse spinal motoneurons," *J. Physiol.*, **566**, No. 2, 519-532 (2005).
31. A. Sawczuk, R. K. Powers, and M. D. Binder, "Contribution of outward currents to spike-frequency adaptation in hypoglossal motoneurons of the rat," *J. Neurophysiol.*, **78**, No. 5, 2246-2253 (1997).
32. R. K. Powers, A. Sawczuk, J. R. Musick, et al., "Multiple mechanisms of spike-frequency adaptation in motoneurons," *J. Physiol.*, **93**, Nos. 1/2, 101-114 (1999).
33. D. Kernell and A. W. Monster, "Motoneurone properties and motor fatigue. An intracellular study of gastrocnemius motoneurons of the cat," *Exp. Brain Res.*, **46**, 197-204 (1982).
34. R. B. Stein and F. Parmiggiani, "Optimal motor patterns for activating mammalian muscle," *Brain Res.*, **175**, 372-376 (1979).