

13. Zottoli S.J. and Faber D.S. Properties and distribution of anterior VIII-th nerve excitatory inputs to the goldfish Mauthner cell. *Brain Res.*, 1979, v. 174, № 2, p. 319–323.
14. Zottoli S.J., Hordes A.R. and Faber D.S. Localization of optic tectal input to the ventral dendrite of the goldfish Mauthner cell. *Brain Res.*, 1987, v. 401, № 1, p. 113–121.

Поступила в редакцию 15.05.07

CHANGES OF THE VENTRAL DENDRITE OF GOLDFISH MAUTHNER NEURON INDUCED BY OPTOKINETIC STIMULATION

R.Sh. Shtanchayev, G.Z. Mikhailova, N.Yu. Dektyaryova, N.A. Kokanova and D.A. Moshkov

It was recently demonstrated that following the optomotor drum, rotating contralaterally to the turn side, spontaneously preferred by the goldfish fry, inverted their motor asymmetry. The study of Mauthner neuron (MN) structure using the histological

method of 3D reconstruction, and the measurements of right and left MN in these fishes, has detected the 3-fold decrease of the volume of the ventral dendrite (VD) of ipsilateral MN, which was reciprocally related to MN functional activity. At the same time, total volume of contralateral MN remained larger than that of ipsilateral one by one quarter, which was the case in intact fishes. It is suggested that the decrease in the size of VD, which receives the afferentation from the contralateral eye, that follows the moving stripes of the optomotor drum, is the result of a specific contralateral visual stimulation and is the first evidence of the possibility of MN natural stimulation through VD.

Key words: *Mauthner neurons, dimensions, specific visual stimulation, morpho-functional asymmetry.*

Laboratory of Neuron Ultrastructure, RAS Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Pushchino, «Biomedical Sciences» Master's Educational Program, Training Center of Biophysics and Biomedicine, Pushchino State University.

© Коллектив авторов, 2007
УДК 611.839.6:611.345:636.8

А.А. Дорофеева¹, С.С. Пантелеев¹ и Ф.Н. Макаров¹

ПАРАСИМПАТИЧЕСКАЯ ИННЕРВАЦИЯ НАЧАЛЬНЫХ ОТДЕЛОВ ТОЛСТОЙ КИШКИ У КОШКИ

¹ Лаборатория кортико-висцеральной физиологии (зав. — д-р биол.наук С.С. Пантелеев) и ² лаборатория нейроморфологии (зав. — д-р мед.наук Ф.Н. Макаров) Института физиологии им. И.П.Павлова РАН, Санкт-Петербург

Исследована локализация и морфометрические особенности эфферентных парасимпатических нейронов в дорсальном моторном ядре блуждающего нерва и в крестцовом парасимпатическом ядре спинного мозга, иннервирующих область илеоцекального сфинктера, восходящую и поперечную ободочную кишку. Наркотизированным уретаном кошкам под серозную оболочку указанных участков толстой кишки вводили раствор пероксидазы хрена. Через 48 ч животных транскардиально перфузировали фиксирующей смесью и изготавливали срезы продолговатого и спинного мозга, которые обрабатывали по методике М. Мезулама. Показано, что все исследованные отделы толстой кишки получают парасимпатическую иннервацию от нейронов вентролатеральной части дорсального моторного ядра, которые однородны по своим морфометрическим характеристикам. Число нейронов этой группы, посылающих аксоны к илеоцекальной области, больше, чем число нейронов, иннервирующих восходящую ободочную кишку. Вторая группа нейронов, представленная более мелкими клетками, расположена в той же области ядра и иннервирует поперечную ободочную кишку. Поперечная ободочная кишка, кроме того, получает иннервацию и от нейронов крестцового парасимпатического ядра спинного мозга.

Ключевые слова: *толстая кишка, парасимпатическая иннервация, кошка, пероксидаза хрена.*

Парасимпатическая иннервация толстой кишки осуществляется нейронами дорсального моторного ядра (ДМЯ) блуждающего нерва (БН) и крестцового парасимпатического ядра (КПЯ) спинного мозга. На кошках детально изучена локализация преганглионарных нейронов ДМЯ, иннервирующих желудок и разные участки тонкой кишки [1, 3–5]. Установлено, что группы нейронов, иннервирующих желудок и тонкую кишку, локализованы в ДМЯ в виде последовательности продольных колонок, занимающих в нем медиодорсолатеральное положение [4]. Значительно меньше исследована локализация групп нейронов этого ядра, иннервирующих илеоцекальную

область, восходящую и поперечную ободочную кишку [14]. Таким образом, знание организации парасимпатической иннервации толстой кишки важно для понимания не только общих принципов иннервации пищеварительного тракта, но и физиологических механизмов регуляции ее функций. Учитывая сказанное, цель настоящей работы — изучить распределение в указанных ядрах преганглионарных нейронов, иннервирующих илеоцекальную область, восходящую и поперечную ободочную кишку, дать их морфометрическую характеристику и определить участок толстой кишки, где начинается иннервация со стороны КПЯ.

Материал и методы. Работа выполнена на 13 наркотизированных уретаном (1,3–1,5 г/кг) взрослых кошках массой 2–4 кг в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ № 755 от 12.08.1997 г. МЗ СССР). В качестве ретроградного маркера использовали пероксидазу хрена (100 мкл, 50% раствора HRP VI, RZ>3,0, Sigma, США). Раствор маркера вводили под серозную оболочку илеоцекальной области (n=4), восходящей (n=4) и поперечной (n=5) ободочной кишки. Площадь участка введения составляла около 4 см². Через 48 ч животных повторно наркотизировали и производили транскардиальную перфузию изотоническим раствором, а затем фиксирующей смесью 1% раствора параформальдегида и 1,25% раствора глутаральдегида на фосфатном буфере (рН 7,4). После перфузии часть продолговатого мозга в области вагосолитарного комплекса и крестцовый отдел спинного мозга (сегменты S_I–S_{III}) помещали в 30% раствор сахарозы на фосфатном буфере и выдерживали в течение 12 ч при температуре 4 °С. На замораживающем микротоме изготавливали фронтальные срезы продолговатого мозга и продольные серийные срезы крестцовых сегментов спинного мозга толщиной 50 мкм, которые затем обрабатывали по модифицированной методике М.-М. Mesulam [12]. С помощью светового микроскопа (JENAMED 2, Германия) и цифровой камеры (Konica Minolta G 400, Япония) изображения срезов оцифровывали и сохраняли в памяти компьютера. На каждом 4-м срезе продолговатого мозга подсчитывали количество меченых нейронов. В каждой серии опытов определяли среднее число этих нейронов в ДМЯ БН. Определение размеров меченых клеток осуществляли с использованием программы анализа изображений Image J (НИН, США). Статистическую оценку значимости цифровых данных проводили с применением критерия Стьюдента.

Результаты исследования. После введения раствора маркера в область илеоцекального сфинктера небольшое количество меченых клеток обнаружено только в ДМЯ БН. Это были мультиполярные нейроны овальной и треугольной формы. На фронтальных срезах продолговатого мозга их общее количество было относительно небольшим и варьировало у разных животных от 3 до 27. Эти клетки располагались в вентролатеральной части ядра, в области, ограниченной фронтальными плоскостями: от –0,4 до +2,2 мм по отношению к *obex* (рис. 1).

После введения маркера в стенку восходящей ободочной кишки единичные меченые клетки были обнаружены также только в ДМЯ БН. По форме и морфометрическим характеристикам эти нейроны были аналогичны нейронам, иннервирующим илеоцекальную область (таблица). Эти

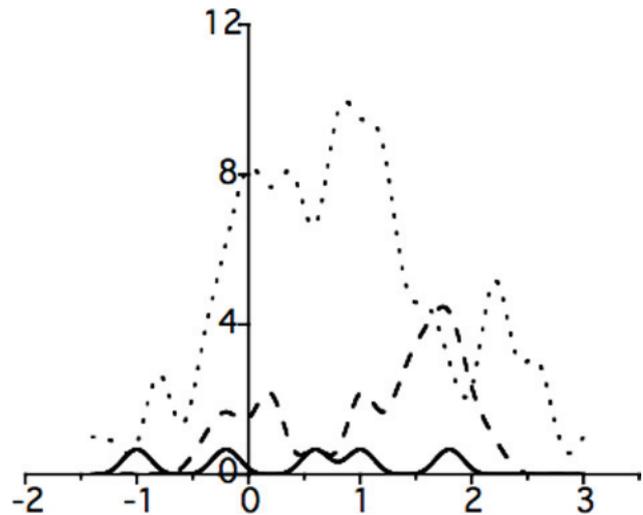


Рис. 1. Распределение меченых клеток по длине дорсального моторного ядра блуждающего нерва после введения пероксидазы хрена в область илеоцекального сфинктера (штриховая линия), в стенку восходящей (сплошная линия) и поперечной ободочной (пунктирная линия) кишки.

По оси абсцисс — расстояние относительно *obex* (0) (мм); по оси ординат — количество меченых клеток.

нейроны также располагались в вентролатеральной части ядра, однако занимали более каудальную область ядра, ограниченную фронтальными плоскостями: –1,0 и +1,7 мм по отношению к *obex* (см. рис. 1).

После введения раствора маркера в стенку поперечной ободочной кишки меченые нейроны были обнаружены как в ДМЯ БН, так и в КПЯ спинного мозга (рис. 2).

В ДМЯ БН относительно небольшое количество меченых клеток (от 7 до 57 клеток у разных животных) было обнаружено в его вентролатеральной части. Область расположения этих клеток перекрывала зону локализации нейронов, иннервирующих илеоцекальную область и восходящую ободочную кишку, и занимала участок ядра, ограниченный фронтальными плоскостями: –1,4 и +2,6 мм по отношению к *obex* (см. рис. 1). В отличие от нейронов, иннервирующих илеоцекальную область и восходящую ободочную кишку, эти клетки имели меньшие размеры (таблица). Нам не удалось обнаружить топического распределения нейронов ДМЯ, иннервирующих

Морфометрические характеристики меченых клеток дорсального моторного ядра блуждающего нерва

Объект исследования	Площадь сечения, мкм ²	Большой диаметр, мкм	Малый диаметр, мкм
Область илеоцекального сфинктера	323±23	28,5±1,3	14,3±0,6
Восходящая ободочная кишка	336±26	27,8±1,4	15,4±1,0
Поперечная ободочная кишка	256±10*	24,1±0,6*	13,4±0,3

* Различия по сравнению с параметрами нейронов других отделов толстой кишки значимы при P<0,05.

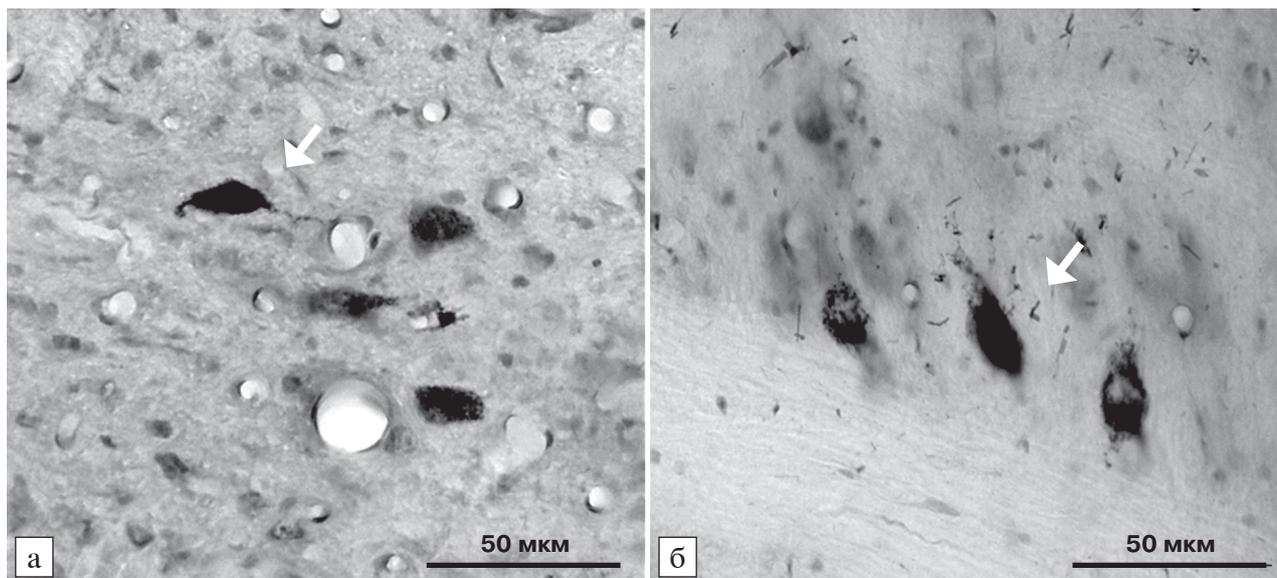


Рис. 2. Фронтальный срез дорсального моторного ядра блуждающего нерва (а) и продольный срез крестцового отдела спинного мозга (б) с мечеными клетками (стрелки) после введения пероксидазы хрена в стенку поперечной ободочной кишки.

исследованные области толстой кишки. Участки локализации этих нейронов перекрывались в вентролатеральной области ядра (рис. 3).

Меченые нейроны располагались в пределах КПЯ, образуя на продольных срезах крестцового отдела спинного мозга относительно узкую полоску клеток вдоль боковой границы серого вещества. Число меченых нейронов в КПЯ колебалось от 5 до 127 (29 ± 25). Эти нейроны составляли относительно однородную по размерам группу клеток с площадью сечения, большим и малым диаметрами, соответственно $391 \pm 14 \text{ мкм}^2$, $29,1 \pm 0,7$ и $16,9 \pm 0,4 \text{ мкм}$, образуя 2 скопления, расположенные на глубине 850–1100 мкм и 1150–1500 мкм от дорсальной поверхности мозга.

Таким образом, илеоцекальная область и восходящая ободочная кишка иннервируются однородной по морфометрическим характеристикам группой нейронов ДМЯ. Число нейронов этой группы, посылающих аксоны к илеоцекальной области, больше, чем число нейронов, иннервирующих восходящую ободочную кишку. Вторая группа нейронов, представленная более мелкими клетками, расположена в той же области ядра и иннервирует поперечную ободочную кишку (рис. 4).

Начиная с поперечной ободочной кишки, наблюдается двойная парасимпатическая иннервация толстой кишки: нейронами ДМЯ БН и нейронами КПЯ спинного мозга.

Обсуждение полученных данных. Согласно полученным нами данным, парасимпа-

тическая иннервация илеоцекальной области и восходящей ободочной кишки осуществляется группами крупных нейронов ДМЯ БН, образующих продольную колонку клеток вентролатеральной части ядра. Общее количество этих клеток относительно невелико, при этом большая их часть иннервирует илеоцекальную область. Эти результаты находятся в соответствии с данными об уменьшении градиента плотности вагусной иннервации пищеварительного тракта в краниокаудальном направлении [9]. Хотя четкого топического распределения нейронов ДМЯ, иннервирующих указанные области кишки, нам выявить не удалось, тем не менее, была обнаружена определенная тенденция в их распределении. Так, нейроны, посылающие аксоны к илеоцекальной области, располагались более рострально, чем нейроны, иннервирующие восходящую ободочную кишку. Следует подчеркнуть, что при введении пероксидазы хрена под серозную оболочку илеоцекальной области и восходящей ободочной кишки мы не обнаружили меченых клеток в КПЯ, что, очевидно, свидетельствует об отсутствии парасимпатической иннервации этих участков толстой кишки нейронами данного ядра. Впервые нам удалось выявить в ДМЯ БН группу нейронов, посылающих аксоны к поперечной ободочной кишке. Эти клетки имели меньшие размеры и их количество было существенно больше, чем нейронов, иннервирующих илеоцекальную область и восходящую ободочную кишку. Указанная группа клеток также располагалась в вентролатеральной части ядра, однако область их локализации

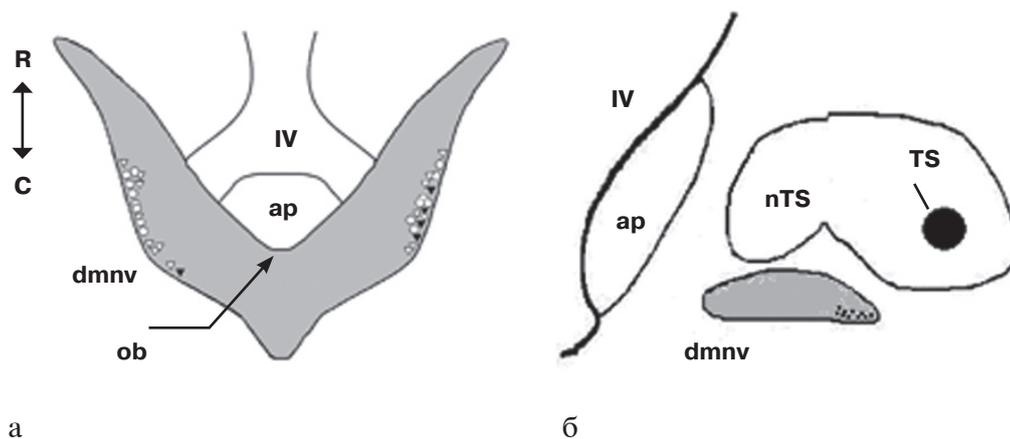


Рис. 3. Горизонтальная (а) и фронтальная (б) схемы локализации нейронов дорсального моторного ядра блуждающего нерва, иннервирующих область илеоцекального сфинктера (кружки), восходящую (темные треугольники) и поперечную ободочную (светлые треугольники) кишку.

R-C — rostrocaudalное направление; ap — *area postrema*; IV — четвертый желудочек; dmnv — дорсальное моторное ядро блуждающего нерва; nTS — ядро одиночного тракта; TS — одиночный тракт; ob — *obex*.

перекрывала расположение нейронов, иннервирующих илеоцекальную область и восходящую ободочную кишку. Примечательно, что при введении пероксидазы хрена в стенку поперечной ободочной кишки мы обнаружили меченые клетки и в КПЯ спинного мозга. Ранее предполагалось, что у кошек вагусная иннервация толстой кишки заканчивается на границе нисходящей ободочной и прямой кишки и в этой же области начинается иннервация от КПЯ спинного мозга [14]. Однако указанные авторы введение пероксидазы хрена производили в стенку нисходящей и прямой кишки, таким образом, отделы толстой кишки, изученные в настоящей работе, остались не исследованными.

Итак, наши данные показывают, что у кошек илеоцекальная область и восходящая ободочная кишка иннервируются однородной по морфометрическим характеристикам группой нейронов ДМЯ, расположенной в его вентролатеральной части. Нейронов, посылающих аксоны к илеоцекальной области, больше, чем иннервирующих восходящую ободочную кишку. Вторая группа нейронов, представленная более мелкими клетками, расположена в той же области ядра и иннервирует поперечную ободочную кишку. У крыс парасимпатическая иннервация толстой кишки нейронами ДМЯ, по-видимому, ограничена илеоцекальной областью, слепой кишкой и восходящей ободочной кишкой [6–10] или этот орган вообще не получает иннервации от нейронов ДМЯ [15], тогда как у собак все отделы толстой кишки могут иннервироваться БН [11]. По-видимому, можно предположить существование видовой специфичности в иннервации толстой кишки нейронами ДМЯ.

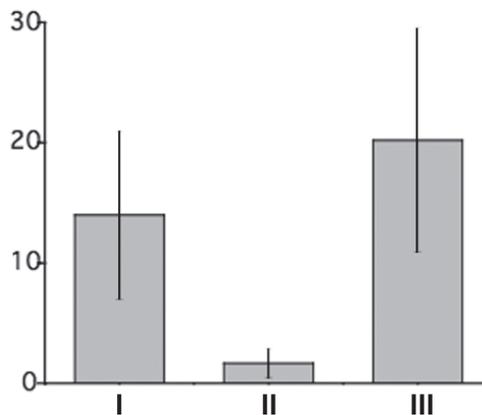


Рис. 4. Распределение числа меченых нейронов дорсального моторного ядра блуждающего нерва при введении раствора пероксидазы хрена в разные участки толстой кишки.

По горизонтальной оси: I — илеоцекальная область; II — восходящая ободочная кишка; III — поперечная ободочная кишка; по оси ординат — количество меченых клеток. Вертикальные отрезки — значения стандартной ошибки.

Функциональное значение такой организации парасимпатической иннервации исследованных отделов толстой кишки не ясно. В опытах со стимуляцией БН показано, что, несмотря на незначительное представительство толстой кишки в ДМЯ БН, раздражение последнего может сопровождаться моторными ответами восходящей и поперечной ободочной кишки, хотя ваготомия не оказывала существенного влияния на моторную активность толстой кишки [13].

В целом, наши результаты дополняют данные о распределении нейронов ДМЯ, иннервирующих желудок и тонкую кишку пищеварительного тракта [2]. Нейроны, иннервирующие исследованные нами отделы толстой кишки, расположены в

вентролатеральной части ядра, замыкая последовательность выявленных ранее колонок ДМЯ [2].

Коллектив авторов благодарит младшего научного сотрудника Е.Б. Плужниченко и старшего лаборанта Г.В. Корниченко лаборатории кортико-висцеральной физиологии Института физиологии им. И.П.Павлова РАН за помощь, оказанную в проведении экспериментов.

ЛИТЕРАТУРА

- Багаев В.А. и Макаров Ф.Н. Дорсальное моторное ядро блуждающего нерва и его роль в иннервации пищеварительного тракта. Морфология, 1997, т. 111, вып. 1, с. 7–14.
- Багаев В.А., Макаров Ф.Н., Рыбаков В.Л. и др. Локализация нейронов в дорсальном двигательном ядре блуждающего нерва, иннервирующих пилорическую область желудка. Докл. АН СССР, 1989, т. 304, № 4, с. 985–987.
- Багаев В.А., Макаров Ф.Н., Рыбаков В.Л. и др. Локализация нейронов, иннервирующих верхнюю часть двенадцатиперстной кишки, в дорсальном моторном ядре блуждающего нерва. Физиол. журн. СССР, 1991, т. 77, № 1, с. 45–52.
- Багаев В.А., Ноздрачев А.Д. и Пантелеев С.С. Ваго-вагальная рефлекторная дуга. Элементы структурно-функциональной организации. СПб., Изд-во Санкт-Петербургск. ун-та, 1997.
- Багаев В.А., Филиппова Л.В., Акоев Г.Н. и Макаров Ф.Н. Экстраорганные источники парасимпатической иннервации тонкой кишки в области связки Трейтца. Нейрофизиология, 1992, т. 24, № 4, с. 423–430.
- Altschuler S.M., Escardo J., Lynn R.B. and Miselis R.R. The central organization of the vagus nerve innervating the colon of the rat. Gastroenterology, 1993, v. 104, p. 502–509.
- Altschuler S.M., Ferenci D.A., Lynn R.B. and Miselis R.R. Representation of the cecum in the lateral dorsal motor nucleus of the vagus nerve and commissural subnucleus of the nucleus tractus solitarius in rat. J. Comp. Neurol., 1991, v. 304, № 2, p. 261–274.
- Berthoud H.-R., Carlson N.R. and Powley T.L. Topography of efferent vagal innervation of the rat gastrointestinal tract. Am. J. Physiol., 1991, v. 260, p. 200–207.
- Berthoud H.-R., Jedrzejewska A. and Powley T.L. Simultaneous labeling of vagal innervation of the gut and afferent projections from the visceral forebrain with Dil injected into the dorsal vagal complex in the rat. J. Comp. Neurol., 1990, v. 301, № 1, p. 65–79.
- Connors N.A., Sullivan J.M. and Kubbe K.S. An autoradiographic study of the distribution of fibers from the dorsal motor nucleus of the vagus to the digestive tube of the rat. Acta Anat. (Basel), 1983, v. 115, № 3, p. 266–271.
- Hudson L.C. Horseradish peroxidase study of the location of extrinsic efferent and afferent neurons innervating the colon of dogs. Am. J. Vet. Res., 1990, v. 51, № 11, p. 1875–1881.
- Mesulam M.-M. Tetramethylbenzidine for horseradish peroxidase neurohistochemistry: a non-carcinogenic blue reaction product with superior sensitivity for visualizing neural afferents and efferents. J. Histochem. Cytochem., 1978, v. 26, № 2, p. 106–117.
- Rostad H. Colonic motility in the cat. II. Extrinsic nervous control. Acta Physiol. Scand., 1973, v. 89, № 1, p. 91–103.
- Satomi H., Yamamoto T., Ise H. and Takatama H. Origins of the parasympathetic preganglionic fibers to the cat intestine as demonstrated by the horseradish peroxidase method. Brain Res., 1978, v. 151, № 3, p. 571–578.
- Sugitani A., Yoshida J., Nyhus L.M. and Donahue P.E. Viscerotopic representation of preganglionic efferent vagus nerve in the brainstem of the rat: a Fluoro-Gold study. J. Auton. Nerv. Syst., 1991, v. 34, № 2–3, p. 211–219.

Поступила в редакцию 03.04.07

PARASYMPATHETIC INNERVATION OF PROXIMAL PARTS OF THE COLON IN CAT

A.A. Dorofeyeva, S.S. Panteleyev and F.N. Makarov

The localization and morphometric features of efferent parasympathetic neurons of the vagus dorsal motor nucleus and of the spinal sacral parasympathetic nucleus innervating

the area of ileocaecal sphincter, ascending and transverse colon, were investigated. In urethane anaesthetized cats, the solution of horseradish peroxidase was injected under the serosa of the indicated areas of colon. In 48 hours animals were transcardially perfused with a fixative solution. Sections of the medulla oblongata and the sacral spinal cord were stained using Mezulam's technique (1978). It was shown that all the areas of the colon studied received parasympathetic innervation from the neurons of the ventrolateral part of the vagus dorsal motor nucleus, which were uniform according to their morphometric characteristics. The number of neurons in this group, sending their axons to the ileocaecal area, was greater than the number of neurons, innervating ascending colon. Second group of neurons, that was represented by smaller cells, was located in the same part of the nucleus and innervated transverse colon. Transverse colon had an additional parasympathetic supply from the neurons of the spinal sacral parasympathetic nucleus.

Key words: *colon, parasympathetic innervation, cat, horseradish peroxidase.*

Laboratory of Cortico-Visceral Physiology and Laboratory of Neuromorphology, RAS I.P. Pavlov Institute of Physiology, St. Petersburg.