

© А.И. Горбачевская, 2008
УДК 611.814:612.823.5:636.7

А.И. Горбачевская

ОРГАНИЗАЦИЯ ПРОЕКЦИЙ НЕОПРЕДЕЛЁННОЙ ЗОНЫ ПРОМЕЖУТОЧНОГО МОЗГА НА СТРУКТУРЫ ПАЛЛИДУМА МОЗГА СОБАКИ

Лаборатория физиологии высшей нервной деятельности (зав. — д-р биол. наук В.Т. Шуваев) Института физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург

Детальная организация проекций отдельных секторов неопределённой зоны промежуточного мозга на функционально различные структуры паллидума мозга собаки была исследована методом антеро- и ретроградного аксонного транспорта пероксидазы хрена. Установлено, что нейроны каудального сектора неопределённой зоны иннервируют бледный шар и энтопедункулярное ядро, которые в большей степени получают иннервацию от моторных структур. На те же паллидарные структуры проецируются единичные нейроны дорсального и каудального секторов неопределённой зоны. Связи неопределённой зоны с лимбическим вентральным паллидумом не установлены.

Ключевые слова: головной мозг, неопределенная зона, бледный шар, энтопедункулярное ядро, вентральный паллидум.

Клинические данные, а также результаты экспериментальных исследований последних лет [11] указывают на участие неопределённой зоны (ZI) промежуточного мозга в общих функциях с базальными ганглиями. Высказано предположение [7, 11], что функционирование этих структур следует рассматривать только в неразрывной связи. Интерес к ZI, вспыхнувший в начале нынешнего века, в основном связан с поиском новых подходов к лечению паркинсонизма, в патогенез которого это ядро вовлечено наряду с базальными ганглиями. Было выявлено, что при лечении данной патологии именно ZI, а не субталамус или паллидум, как полагали ранее, может являться наиболее адекватной мишенью для глубокой стимуляции с целью облегчения расстройств [9, 14]. Значительный вклад в понимание нарушений при таких заболеваниях, а также механизмов организации различных поведенческих актов может внести знание малоизученных связей ZI [8, 11, 12] с базальными ганглиями, неодинаковых по структурным, нейрхимическим и функциональным характеристикам, в частности, с одними из их основных выходных структур — паллидарными ядрами. В связи с недостаточной разработанностью вопроса о структурной дифференцировке ZI на подструктуры для ряда видов, в том числе и для собаки, сведения, касающиеся организации связей отдельных сегментов этих структур с паллидумом, являются ограниченными, а для собаки вообще отсутствуют. Поэтому цель настоящего исследования — рассмотреть детальную организацию проекций отдельных секторов ZI на функционально различные структуры паллидума.

Материал и методы. Работа выполнена на 12 взрослых беспородных собаках в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных живот-

ных (приказ № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР). Операцию, как и перфузию, осуществляли под внутривенным наркозом пропофола (Б. Браун Мельзунген АГ, Германия) (2,5 мг/кг) после предварительного внутримышечного введения рометара (4 мг/кг). В качестве маркёров использовали 0,12–0,08 мкл 40% водного раствора пероксидазы хрена (HRP, тип VI, Sigma, Германия) или 0,1 мкл 2,5% HRP, конъюгированной с аглютинином проростков пшеницы (WGA, Sigma, Германия). HRP является ретроградным, а HRP-WGA — одновременно ретроградным и антероградным маркёром, введение которого позволяет выявлять не только ретроградно меченные тела клеток, но и антероградно меченные аксоны. В стерильных условиях по стереотаксическим координатам атласа [6] маркёр вводили в функционально различные области паллидума, выделенные на основании преобладания входов от лимбических или моторных структур [1]: лимбическую (вентральный паллидум), моторную (бледный шар и энтопедункулярное ядро). Последнее ядро, хотя и получает проекции от функционально различных структур, можно отнести к моторной области паллидума, поскольку показано, что преобладающее число (90%) его нейронов связано с моторными структурами мозга [13]. Спустя 48 ч производили перфузию головного мозга.

Эту процедуру, а также последующую обработку мозга осуществляли по прописи М.-М. Mesulam [10], используя тетраметилбензидин для гистохимического выявления HRP в телах и аксонах нейронов ZI. Определение фронтальных уровней гистологических срезов мозга, а также идентификацию ZI и её отдельных секторов проводили в соответствии с атласом [6] и собственными данными по изучению её топографии и цитоархитектоники [2].

Результаты исследования. Полученные данные, касающиеся распределения меченных HRP тел нейронов и аксонов в разных секторах ZI промежуточного мозга собаки при инъекциях маркёра в структуры паллидума, обобщены в таблице.

У всех животных 1-й группы, которым маркёр вводили в бледный шар, меченые нейроны преобладали в каудальном секторе ZI (ZIc) (рис. 1, а),

Распределение меченых тел нейронов и аксонов в разных секторах неопределённой зоны (ZI) промежуточного мозга при инъекциях маркера в структуры паллидума мозга собаки

Группы животных	№ животного	Локализация зон инъекций маркера (HRP или HRP-WGA) в структурах паллидума	Фронтальные уровни по атласу [5]	Меченные HRP тела нейронов и аксоны в разных секторах ZI				
				ZIr	ZId	ZIv	ZIc	ZId-1
1-я	1	GP (HRP-WGA)	23,5–22,5	ант	+/ант	+/ант	++/ант	0
	2	GP(HRP)	22,5–20,5	0	+	+	++	0
	3	GP(HRP)	20,0–19,0	0	+	+	++	0
	4	GP(HRP-WGA)	20,5–19,5	ант	+/ант	+/ант	++/ант	+
	5	GP(HRP)	15,5–14,0	0	0	0	++	0
2-я	6	ENT(HRP-WGA)	22,0–19,5	ант	+/ант	+/ант	++/ант	0
	7	ENT(HRP)	21,0–19,0	0	+	++	++	0
	8	ENT(HRP-WGA)	20,0–19,0	ант	+/ант	+/ант	++/ант	0
	9	ENT(HRP)	16,5–15,5	0	0	0	+	+
3-я	10	VP(HRP-WGA)	24,5–23,5	0	0	0	0	0
	11	VP(HRP)	24,5–24,0	0	0	0	0	0
	12	VP(HRP)	24,5–23,5	0	0	0	0	0

Примечание. Число нейронов (Н), меченных маркером на одном фронтальном срезе мозга: 0 — меченые нейроны отсутствовали; + — (1-3н); ++ — (4-10н); ант — антероградное мечение аксонов. Структуры паллидума: ENT — энтопедункулярное ядро; GP — бледный шар; VP — вентральный паллидум. Сектора ZI: ZIc — каудальный; ZId — дорсальный; ZIv — вентральный; ZIr — ростральный; ZId-1 — дорсолатеральный. Маркеры: HRP — пероксидаза хрена; HRP-WGA — пероксидаза хрена, конъюгированная с агглютинином проростков пшеницы.

а в дорсальном (ZId) (см. рис. 1, б) и вентральном (ZIv) (см. рис. 1, в) секторах зафиксированы единичные маркированные клетки у всех животных, кроме собаки № 5. У этого животного с локализацией маркера на самых каудальных уровнях бледного шара меченых клеток в других секторах ZI, кроме ZIc, не наблюдали. В дорсолатеральном секторе ZI (ZId-1) у одного животного (№ 4) были обнаружены единичные меченые нейроны. У животных этой группы, которым вводили HRP-WGA (собаки № 1 и № 3), отмечено антероградное мечение волокон (см. рис. 1, в) в этих же секторах, где выявлены HRP-меченные нейроны, а также в ростральном секторе ZI (ZIr), в котором маркированных клеток не обнаружено ни у одного животного из этой группы.

В следующей группе животным инъецировали маркер в энтопедункулярное ядро. При этом характер распределения меченых клеток и волокон в секторах ZI был сходен с таковым у животных предыдущей группы. У собак № 6-8 большая часть меченых нейронов выявлена в ZIc (см. рис. 1, г), небольшое количество их отмечено в ZId (см. рис. 1, д) и ZIv. В этих же секторах, а также в ZIr, в котором меченые клетки не наблюдались, обнаружены меченые волокна (см. рис. 1, д). У собаки № 9, у которой зона инъекции маркера была локализована в более каудальной области ядра, чем у предыдущих животных, в ZId и ZIv маркированных клеток не обнаружено, при этом единичные нейроны наблюдались в ZIc и только у этого животного — в ZId-1.

У животных 3-й группы, которым вводили маркер в вентральный паллидум, ни ретроградно меченных клеток, ни антероградно меченных аксонов ни в одном из секторов ZI не обнаружено.

Обсуждение полученных данных. Таким образом, нейроны, проецирующиеся на дорсальный паллидум, локализованы преимущественно в ZIc и лишь единичные — в ZId и ZIv. На вентральный паллидум ни один из секторов ZI не проецируется. При рассмотрении антероградного мечения аксонов в ZI необходимо напомнить, что в опытах с введением ретроградного маркера — HRP в разные сектора ZI было показано наличие афферентных проекций на ростральный, медиальный и каудальный отделы ZI от бледного шара и энтопедункулярного ядра [3]. Однако в этих опытах не удалось дифференцировать проекции отдельных секторов, в частности, дорсального и вентрального, поскольку зона инъекции маркера даже при введении его минимального объема (0,05 мкл) распространялась на оба исследуемых сектора, протяженность которых в дорсовентральном направлении не превышает 1 мм. В настоящих опытах при введении HRP-WGA в моторные дорсальные структуры паллидума (бледный шар и энтопедункулярное ядро) в ростральном, вентральном, дорсальном и каудальном секторах ZI обнаружено антероградное мечение аксонов, что свидетельствует о наличии проекций от этих паллидарных структур на все сектора ZI. Выявить какой-либо топик в организации пал-

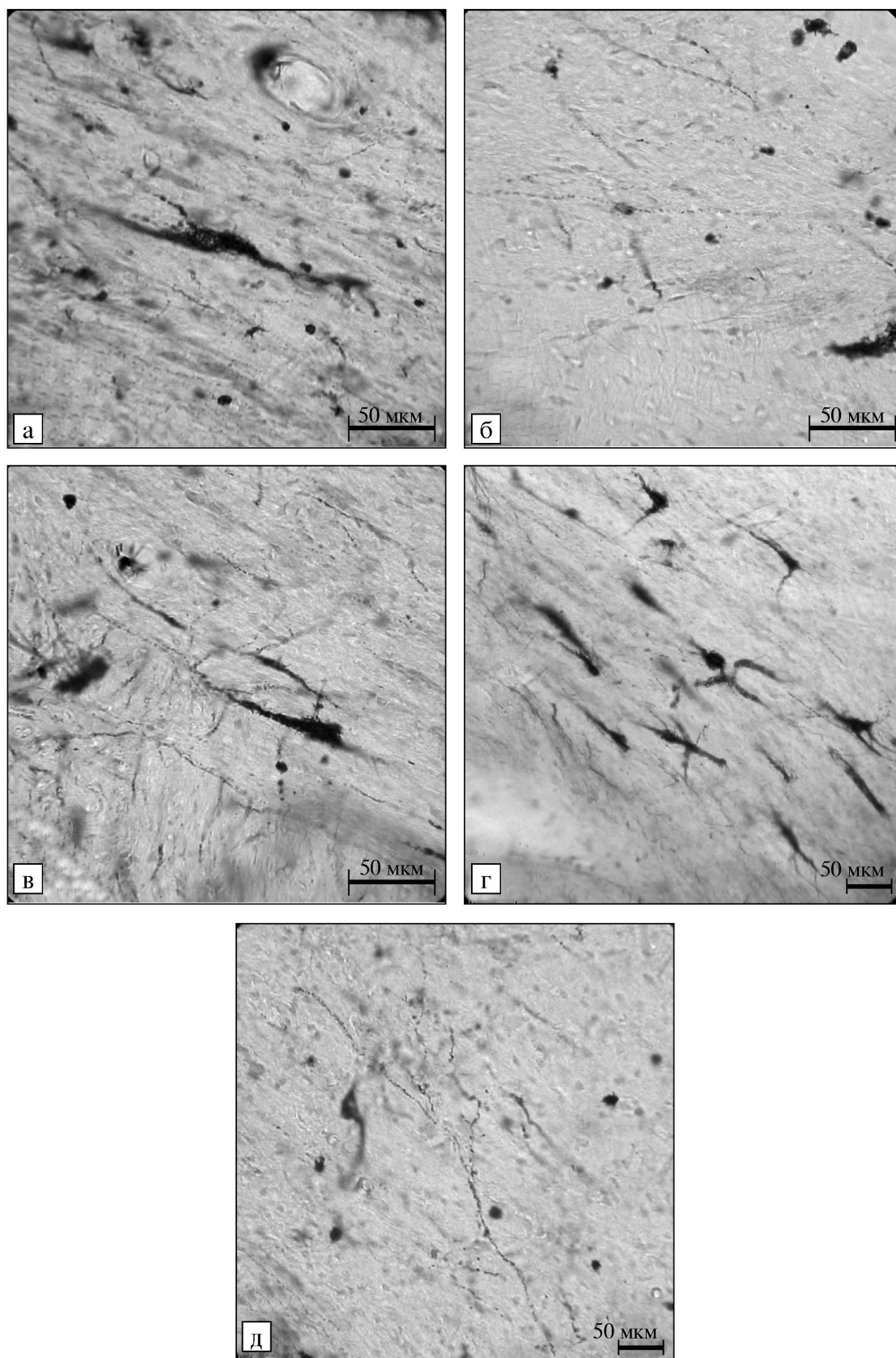


Рис. 1. Меченые тела нейронов и аксоны в каудальном (а), дорсальном (б) и вентральном (в) секторах неопределенной зоны (ZI) промежуточного мозга собаки при введении маркёра в бледный шар и в каудальном (г) и дорсальном (д) секторах ZI при введении маркёра в энтопедункулярное ядро.

Ретроградное и антероградное мечение в ZI при введении пероксидазы хрена или пероксидазы хрена, конъюгированной с агглютинином проростков пшеницы в структуры паллидума. Окраска по М.М. Mesulam [10].

лидоинцертальных проекций у собаки не удалось, поскольку вне зависимости от локализации зоны инъекции маркера в бледный шар или энтопедункулярное ядро, распределение меченых аксонов в разных секторах было одинаковым. Аналогичное распределение меченых нейронов в этих структурах паллидума было описано ранее [3] и при введении ретроградного маркера в разные сектора ZI. Необходимо подчеркнуть, что антероградного мечения аксонов не было выявлено ни в одном из секторов ZI при введении маркера в вентральный паллидум.

На рис. 2 представлены обобщенные данные, полученные ранее [3] и в настоящем исследовании, об организации реципрокных проекций отдельных подструктур ZI и структур паллидарного ядерного комплекса. В проведенных опытах не установлены проекции ZIr на паллидум, а также не удалось выявить наличия связей между лимбическим вентральным паллидумом и ZI. Как видно из схемы, ZI взаимосвязана реципрокными проекциями только с паллидарными структурами, задействованными в реализации преимущественно моторных аспектов поведенческих актов. Полученные данные свидетельствуют о наличии проекций моторных паллидарных структур — бледного шара и энтопедункулярного ядра на ZIr, ZIc, ZId и ZIv. Примечательно, что проекции ZIc, а также ZId и ZIv направлены также только на моторные (бледный шар, энтопедункулярное ядро) структуры паллидума. Характерно, что ZIc, в котором выявлено наибольшее число паллидарных проекционных нейронов, вовлечен в регуляцию позы и локомоции [12]. Оказалось, что глубокая мозговая стимуляция именно этого сектора вызывает более значительное улучшение моторных нарушений у больных паркинсонизмом, чем при стимуляции других секторов ZI и субталамуса [14]. Можно полагать, что ZIc, в основном иннервирующий моторный паллидум, нужно отнести к моторной области ZI. Необходимо отметить, что ZId участвует в контроле реакции пробуждения (arousal), а ZIv принимает участие в организации ориентировочных движений глаз и головы, а кроме того, в обоих секторах описана соматотопическая карта представительства головы и конечностей [11, 12]. В связи с этим следует рассматривать указанные сектора также, как функционирующие в моторном круге. Вообще при анализе моторных нарушений у больных паркинсонизмом высказано предположение, что специфические клинические черты двигательных расстройств зависят от включения в функционирование моторного круга индивидуальных моторных подкругов [4]. Исходя из сказанного, возможно, три названные выше сектора включены в разные петли или подкруги моторного круга, которые ответственны за раз-

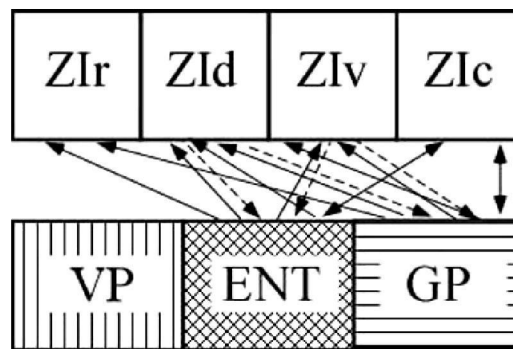


Рис. 2. Организация связей между отдельными секторами неопределенной зоны (ZI) промежуточного мозга собаки и функционально различными структурами паллидума.

Сектора ZI: ZIr — роstralный, ZId — дорсальный, ZIv — вентральный, ZIc — каудальный; структуры паллидума: ENT — энтопедункулярное ядро, GP — бледный шар, VP — вентральный паллидум. В структурах паллидума: горизонтальная штриховка — область, получающая преобладающие проекции от моторных структур; вертикальная штриховка — от лимбических структур, двойная диагональная штриховка — от функционально различных структур. Стрелки указывают наличие проекций: сплошные — 4–10 нейронов, пунктирные — единичных нейронов.

ные симптомы двигательных расстройств (например, гипокинетические или гиперкинетические). По существу, ZI, иннервируя моторный дорсальный паллидум, в то же время является релейной структурой для сегрегированного проведения в неё информации, исходящей из тех же структур паллидума. Однако, наряду с наличием элементов функциональной сегрегации, наблюдаемое перекрытие проекционных волокон, исходящих от нейронов ZIc, ZId и ZIv в моторных структурах паллидума — энтопедункулярном ядре и бледном шаре и наоборот — от нейронов этих паллидарных структур во всех секторах ZI, позволяет предположить, что в этих структурах может осуществляться интеграция информации, поступающей по разным подкругам. Вероятно, исследуемое ядро может контролировать прямой (через энтопедункулярное ядро) и непрямой (через бледный шар) выходные пути базальных ганглиев и, оказывая влияние на разные аспекты моторного поведения, участвует в селекции необходимого организму в данный момент поведенческого акта. В целом, полученные результаты, указывающие на связь ZI с выходными структурами базальных ганглиев, в совокупности с данными физиологических исследований и клинических наблюдений позволяют согласиться с высказанным предположением [11] о том, что рассматриваемые структуры являются частью единой морфофункциональной системы базальных ганглиев.

Анализ литературных данных свидетельствует, что существующие сведения об исследуе-

мых проекциях довольно разрозненны и противоречивы. В ряде исследований [5, 8, 15, 16] есть указания на наличие проекций ZI на базальные ганглии (бледный шар, энтопедункулярное ядро, чёрное вещество, педункулопонтинное ядро), но эти связи рассматривались только наряду со многими другими афферентными или эфферентными системами ZI. Указанное обстоятельство явилось причиной того, что до настоящего времени отсутствуют работы, выполненные на каком-либо животном и посвященные, подобно настоящему исследованию, проведённому на собаке, детальному изучению связей отдельных секторов ZI с каждой структурой паллидарного ядерного комплекса.

Полученные данные об особенностях организации взаимных проекций ZI и паллидума мозга собаки являются приоритетными и вносят вклад в эволюционную морфологию. Они позволяют детализировать представления о возможных путях проведения функционально специфической информации в системе базальных ганглиев и могут быть полезны для дальнейшего совершенствования существующих модельных представлений, описывающих механизм проведения функционально различной информации в системе базальных ганглиев посредством сегрегированных параллельных корково-подкорковых кругов и не учитывающих морфофункциональную взаимосвязь ZI с рассматриваемой системой. Детальное исследование взаимосвязей рассматриваемых структур может быть актуально и для определения точных функциональных территорий в пределах ZI при выборе наиболее адекватных фармакологических, хирургических и электрофизиологических подходов с целью облегчения патологических симптомов, наблюдаемых при нейрологических заболеваниях, в патогенез которых рассматриваемые структуры вовлечены.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 06-04-48346.

ЛИТЕРАТУРА

1. Горбачевская А.И. и Чивилёва О.Г. Морфологический анализ путей проведения информации в базальных ганглиях млекопитающих. Успехи физиол. наук, 2003, т. 34, № 2, с. 46–63.
2. Горбачевская А.И. и Чивилёва О.Г. Структурная организация неопределённой зоны промежуточного мозга собаки. Морфология, 2007, т. 128, вып. 3, с. 11–15.
3. Чивилёва О.Г. и Горбачевская А.И. Проекция базальных ганглиев на неопределённую зону промежуточного мозга собаки. Морфология, 2007, т. 132, вып. 4, с. 21–23.
4. DeLong M.R. and Wichmann T. Circuits and circuit disorders of basal ganglia. Neurol. Rev., 2007, v. 64, № 1, p. 20–24.
5. De Vito J.L., Anderson M.E. and Walsh K.E. A horseradish peroxidase study of afferent connections of the globus pallidus in Macaca mulatto. Exp. Brain Res., 1980, v. 38, № 1, p. 65–73.
6. Dua-Sharma S., Sharma K.N. and Jacobs H.L. The canine brain in stereotaxic coordinates. Cambridge, Massachusetts and London, MIT Press, 1970.
7. Heise C.E. and Mitrofanis J. Evidence for a glutamatergic projection from the zona incerta to the basal ganglia of rats. J. Comp. Neurol., 2004, v. 468, № 3, p. 482–495.
8. Kolmac C.I., Power B.D. and Mitrofanis J. Patterns of connections between zona incerta and brainstem in rats. J. Comp. Neurol., 1998, v. 396, № 3, p. 544–555.
9. Merello M., Tenca E. and Cerquetti D. Neuronal activity of the zona incerta in Parkinson's disease patients. Mov. Disord., 2006, v. 21, № 7, p. 937–943.
10. Mesulam M.M. Tetramethyl benzidine 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.
11. Mitrofanis J. Some certainty for the «zone of uncertainty»? Exploring the function of the zona incerta. Neuroscience, 2005, v. 130, № 1, p. 1–15.
12. Mitrofanis J., Ashkan K., Wallace B.A. and Benabid A.L. Chemoarchitectonic heterogeneities in the primate zona incerta: clinical and functional implications. J. Neurocytol., 2004, v. 33, № 4, p. 429–440.
13. Parent M. and Parent A. The pallidofugal motor fiber system in primates. Parkinsonism Relat. Disord., 2004, v. 10, № 4, p. 203–211.
14. Plaha P., Ben-Shlomo Y., Patel N.K. and Gill S.S. Stimulation of the caudal zona incerta is superior to stimulation of the subthalamic nucleus in improving contralateral parkinsonism. Brain, 2006, v. 126, № 7, p. 1732–1747.
15. Roger M. and Cadusseau J. Afferent connections to the zona incerta in the rat: a combined retrograde and anterograde study. J. Comp. Neurol., 1985, v. 241, № 2, p. 480–492.
16. Shammah-Lagnado S.J., Negrao N. and Ricardo J.A. Afferent connections of the zona incerta: a horseradish peroxidase study in the rat. Neuroscience, 1985, v. 15, № 1, p. 109–134.

Поступила в редакцию 17.01.08

THE ORGANIZATION OF DIENCEPHALIC ZONA INCERTA PROJECTIONS TO THE STRUCTURES OF THE PALLIDUM IN DOG BRAIN

A.I. Gorbachevskaya

The detailed organization of the projections of the individual sectors of the zona incerta of the diencephalon to the functionally diverse pallidal structures in dog brain was investigated by the method of antero- and retrograde axonal transport of horseradish peroxidase. It was found that the neurons of the caudal incertal sector innervated the globus pallidus and the nucleus entopeduncularis which predominantly received the innervation from the motor structures. The projections from single neurons of the dorsal and ventral incertal sectors are directed to the same pallidal structures. No connections of the zona incerta with the limbic ventral pallidum were established.

Key words: brain, zona incerta, globus pallidus, nucleus entopeduncularis, ventral pallidum.

Laboratory of Physiology of Higher Nervous Activity, RAS I.P. Pavlov Institute of Physiology, St. Petersburg.