

**Активность нейронов дорсо-медиальных отделов продолговатого мозга при болевом воздействии на соматические ноцицепторы**

*Белорусский государственный медицинский университет*

В ходе исследования показано, что в адаптивные реакции, индуцированные болевым воздействием, вовлекается преобладающее большинство ( $84.8 \pm 5.3\%$ ) нейронов дорсо-медиальных отделов продолговатого мозга. Ноцицептивно-индуцированная функциональная реорганизация активности дорсо-медиальных медуллярных нейронов, проявляется преимущественно увеличением частоты импульсации нейронов и наличием обратной зависимости между исходным уровнем нейронной активности и характером ее изменения. Имеется также обратная зависимость между исходным значением и величиной изменения активности нейронов: когда их активность исходно высока, относительно среднего значения, то изменяется она в меньшей степени, и наоборот.

Ключевые слова: продолговатый мозг, нейроны, активность, реорганизация, боль.

Дорсо-медиальные отделы продолговатого мозга являются важнейшей областью мозга, опосредующей развитие адаптивных кардио-васкулярных реакций индуцированных болевым воздействием [5, 6, 7, 10]. При этом болевое воздействие может приводить не просто к изменениям, но и к серьезным нарушениям деятельности сердца, что зачастую проявляется возникновением опасных для жизни аритмий и даже внезапной сердечной смерти. Центральные механизмы нейрогенно-индуцированных изменений электрофизиологических свойств миокарда при болевом воздействии, по-прежнему недостаточно изучены.

Целью работы явилось изучение изменений организации активности медуллярных дорсо-медиальных нейронов при механическом болевом воздействии на соматические ноцицепторы.

Материалы и методы

Опыты проводились на 20 беспородных крысах (самцы, масса 290-350 г, возраст 6-7 месяцев), анестезированных внутривенным введением уретана (1.0 г/кг). Эвтаназия животных после опыта осуществлялась декапитацией под наркозом. Все хирургические и экспериментальные процедуры над животными проводились в соответствии с требованиями комиссии БГМУ по использованию животных в учебном процессе и экспериментах.

Координаты регистрируемых областей продолговатого мозга выбирались по стереотаксическому атласу - 12.0 мм каудальнее от Брега, 1.5 мм латеральнее сагитального шва и 5.7-6.1 мм от поверхности мозга, что соответствует расположению ядер солитарного тракта. Мультинейронная активность записывалась с помощью остеклованных вольфрамовых микроэлектродов с сопротивлением 8-9 МОм, которые были изготовлены по технологии описанной Азевым О. А. [1]. Активный электрод подводился к месту регистрации стереотаксическим аппаратом. Индифферентный электрод в виде стальной пункционной иглы помещался в мышцы головы животного.

Далее сигнал от микроэлектродов фильтровался (диапазон 200 - 10000 Гц), усиливался в 1000 раз усилителем нейронной активности (УУ-2М ЭПМ НИИЭМ, Ст. Петербург), контролировался на осциллокопе (С 1-68), оцифровывался с частотой дискретизации 22050 Гц с помощью стандартной стерео-звуковой карты (S 801) и хранился на винчестере персонального компьютера (Celeron 360). Автоматическая детекция и сортировка спайков осуществлялась авторской программой. [3, 9].

В конце опыта, для идентификации места локализации микроэлектрода через него пропускаться ток 1 мА в течение 10 секунд. Далее проводилась декапитация животного, череп вскрывался и помещался в 10% раствор формалина на 48 часов. Затем изготавливались серийные парафиновые срезы продолговатого мозга, толщиной 5 мкм, которые окрашивались по Нисслю. Место локализации микроэлектрода определялось под микроскопом по наличию области некроза, вызванного электролизом тканей.

Механическое болевое воздействие осуществлялось в виде щипкового (pinch) воздействия надпороговой постоянной интенсивности на подошву задней контрлатеральной конечности животного. Для болевого воздействия использовалась небольшая прищепка с приклеенным внутри тупым шипиком [8], при этом развиваемое давление на ткани составляло 2Н/мм<sup>2</sup>.

Определение частоты нейронных разрядов проводилось следующим образом. После выявления времени появления каждого спайка, рассчитывалась обратная величина разницы времени появления соседних спайков. Данная величина отражала мгновенное значение частоты нейронных разрядов [2]. Для последующего анализа использовалось среднее значение мгновенных частот зарегистрированных нейронных разрядов.

Достоверность изменения средних частот нейронной активности оценивалась с помощью критерия Стьюдента и парного критерия Вилкоксона.

#### Результаты и обсуждение

В 20 опытах была произведена регистрация активности 46 нейронов в условии функционального покоя, при ложно-болевым и при истинно-болевым воздействием.

Частота нейронных разрядов составила от  $0.71 \pm 0.21$  Гц до  $69.2 \pm 0.52$  Гц (среднее значение  $21.0 \pm 4.6$  Гц) и от  $0.7 \pm 0.2$  Гц до  $69.2 \pm 0.52$  Гц (средняя  $21.6 \pm 4.0$  Гц), в условии функционального покоя и при действии ложно-болевого стимула, соответственно. При этом ни один из нейронов достоверно не изменил частоту своих разрядов.

Частота нейронных разрядов составляла от  $5.3 \pm 2.5$  Гц до  $106.4 \pm 1.3$  Гц (среднее значение  $28.4 \pm 5.2$  Гц) при действии истинно-болевого стимула. При этом 31 (67.4±6.9%) нейрон достоверно увеличил частоту своих разрядов ( $p < 0.05$ ). Семь нейронов (15.2±5.3%) достоверно уменьшило и восемь (17.4±5.6%) не изменило частоту разрядов. В целом 39 (84.8±5.3%) нейронов достоверно изменило частоту своих разрядов при истинно-болевым воздействием.

Парный критерий Вилкоксона изменения частоты нейронных разрядов при истинно болевом воздействии был равен 5.3 ( $p < 0.001$ ).

Интересным представлялось выявление зависимости изменения частоты нейронных разрядов от исходного уровня их активности.

Для этого нами рассчитывался коэффициент корреляции между параметрами А и В =  $(С-А)/А$ , где А – исходная активность (при ложно-болевым воздействием) нейрона, С – активность нейрона при истинно-болевым воздействием.

Коэффициент корреляции этих параметров составил  $-0.42 \pm 0.12$  ( $p < 0.01$ ). То есть отмечалась некоторая обратная связь между величиной исходного уровня активности нейрона и ее изменением. Таким образом, при болевом воздействии имеется существенная вероятность того, что нейроны с высоким уровнем активности относительно среднего значения будут уменьшать частоту своих разрядов, тогда как нейроны с низким уровнем активности будут ее увеличивать.

Также была определена зависимость абсолютной величины изменения частоты нейронных разрядов от исходного уровня нейронной активности.

Для этого нами рассчитывался коэффициент корреляции между параметрами А и В =  $|(C-A)/A$ , где А – исходная активность (при ложно-болевым воздействии) нейрона, С – активность нейрона при истинно-болевым воздействии, В – нормализованный модуль разницы между С и А. Корреляция исходного уровня нейронной активности и нормализованной абсолютной величины ее изменения  $V = |(C-A)/A$  была равна  $-0.39 \pm 0.12$  ( $p < 0.01$ ). Это, возможно, свидетельствует о том, что имеется некоторая обратная связь между нормализованной абсолютной величиной изменения частоты нейронных разрядов и исходным уровнем нейронной активности – нейроны с исходно большей частотой разрядов слабее изменяли частоту своих разрядов по отношению к исходному уровню. Что может интерпретироваться как некоторая «ригидность» в ноцицептивно-индуцированных изменениях у нейронов с достаточно высокой активностью по отношению к ее среднему значению.

Представленные данные, возможно, свидетельствуют о следующих закономерностях в реакции нейронов дорсо-медиальных отделов продолговатого мозга на механическое болевое воздействие.

Во-первых, большая часть нейронов дорсо-медиальных отделов продолговатого мозга вовлекается в реализацию адаптивных вегетативных реакций при болевом воздействии.

Во-вторых, значительное число нейронов увеличивает свою активность при влиянии болевого фактора.

В-третьих, отрицательная корреляционная связь между исходным уровнем нейронной активности и нормализованной величиной ее изменения при болевом воздействии, по-видимому, указывает на то, что нейроны с высоким уровнем разрядов уменьшали свою активность, а нейроны с исходно низким уровнем частоты импульсации, увеличивали активность при влиянии болевого фактора.

В-четвертых, Имеется некоторая обратная связь между нормализованной абсолютной величиной изменения частоты нейронных разрядов и исходным уровнем нейронной активности – нейроны с исходно большей частотой разрядов слабее изменяли частоту своих разрядов по отношению к исходному уровню. То есть, по-видимому, имеется некоторая «ригидность» в изменениях нейронной активности, когда нейронная активность исходно высока, относительно среднего значения, то изменяется она в меньшей степени.

Многие исследования свидетельствуют о том, что ядра солитарного тракта являются важнейшей областью интеграции ноцицептивной и гомеостатической кардиоваскулярной афферентной информации [4, 5, 7, 10]. В настоящее время выявлено, что имеется значительное ноцицептивно-индуцированное угнетение активности 15% нейронов ядер солитарного тракта, получающих афферентацию от периферических хеморецепторов, что ведет к угнетению брадикардических рефлекторных реакций в ответ на стимуляцию периферических хеморецепторов. При этом ослабление хеморецепторно-индуцированных брадикардических ответов опосредуется действием ГАМК на ГАМКА-ергические рецепторы в ядрах солитарного тракта и предотвращается предварительной микроинъекцией бикукиллина.

Однако активность значительной части (48%) нейронов, получающих хеморецептивную афферентацию, значительно возросла при болевом воздействии, что позволяет предполагать, что данные нейроны могут быть ГАМК-ергическими нейронами тормозной нейронной сети в ядрах солитарного тракта [4, 5, 6, 7, 10].

В настоящее время считается, что болевое воздействие на соматические ноцицепторы ведет к увеличению активности ГАМК-ергических нейронов тормозной нейронной сети в ядрах солитарного тракта. В свою очередь ГАМК-ергические нейроны угнетают активность

нейронов второго порядка, которые взаимодействуют с мотонейронами вагуса и получают афферентную импульсацию от барорецепторов или хеморецепторов. Следствием этого является модуляция гомеостатических кардиоваскулярных рефлексов, приводящая к увеличению частоты и силы сердечных сокращений при болевом воздействии.

В свете приведенных данных, наблюдаемое в данном исследовании увеличение активности у превалирующего большинства нейронов при болевом воздействии может быть связано с тем, что эти нейроны являлись компонентом тормозной нейронной сети, т.е. были ГАМК-ергическими нейронами. Также они могли являться возбуждающими интернейронами, например, содержащими субстанцию Р, получающими ноцицептивную афферентацию и взаимодействующими с тормозными нейронами.

Выявленная двойственность изменения нейронной активности в зависимости от ее исходного значения может быть также связана с функцией тормозной ГАМК-ергической нейронной сети. Поскольку постсинаптические эффекты ГАМК реализуются через ГАМКА рецепторы, являющиеся лигандзависимыми ионными каналами, то в результате действие ГАМК может проявляться как увеличением, так и ослаблением активности постсинаптического нейрона в зависимости от исходного состояния его возбудимости, связанной, прежде всего, со значением мембранного потенциала. Так при высокой исходной возбудимости нейрона и значении потенциала его мембраны близком к критическому, повышение проницаемости мембраны для хлора будет приводить к ее гиперполяризации, как за счет непосредственно входа ионов хлора в клетку так и, более того, за счет открытия преходящих потенциал зависимых калиевых каналов, имеющих на нейронах ядер солитарного тракта. Это будет проявляться как уменьшение активности нейрона. Наоборот, при исходно низкой возбудимости нейрона и большой величине его мембранного потенциала открытие хлорных каналов будет сопровождаться смещением потенциала в сторону деполяризации и сопутствующим уменьшением активации преходящих потенциалзависимых калиевых каналов, что будет проявляться как увеличение степени активности нейрона.

Таким образом, представленные в настоящей работе данные, вероятно, свидетельствуют о том, что вызванная болевым воздействием, функциональная реорганизация активности нейронов и их небольших популяций в дорсо-медиальных отделах продолговатого мозга, возможно, связана с изменением функционального состояния тормозной ГАМК-ергической нейронной сети.

С этой точки зрения, описанные особенности ноцицептивно-индуцированных изменений активности дорсо-медиальных медуллярных нейронов могут представлять интерес в качестве критериев для оценки эффектов анальгетических средств, требования к которым состоят не только в том, чтобы такие средства уменьшали психологические и двигательные реакции, но и устраняли вегетативные изменения при болевом воздействии.

Описанные особенности ноцицептивно-индуцированной реорганизации информационного процессинга могут иметь значение для последующего определения их возможной связи с изменениями электрофизиологических свойств миокарда, равно как для выявления возможных периферических функциональных коррелятов, позволяющих косвенно судить о состоянии ингибиторных процессов в дорсо-медиальных отделах продолговатого мозга.

#### Выводы

В адаптивные реакции, индуцированные болевым воздействием, вовлекается превалирующее большинство ( $84.8 \pm 5.3\%$ ) нейронов дорсо-медиальных отделов продолговатого мозга.

Ноцицептивно-индуцированная функциональная реорганизация активности дорсо-медиальных медуллярных нейронов, проявляется преимущественно увеличением частоты импульсации нейронов и наличием обратной зависимости между исходным уровнем нейронной активности и характером ее изменения. Имеется также обратная зависимость между исходным значением и величиной изменения активности данных нейронов: когда их активность исходно высока, относительно среднего значения, то изменяется она в меньшей степени, и наоборот.

### **Литература**

1. Азев, О. А. Метод изоляции стеклом вольфрамовых микро-электродов / О. А. Азев // Вестці Нацыянальнай Акадэміі навук Беларусі. 2003. № 1. С. 42–44.
2. Мещерский, Р. М. Анализ нейронной активности / Р. М. Мещерский. М., 1972.
3. Прудников, Г. А. Программный комплекс для регистрации активности нейронных ансамблей / Г. А. Прудников // Вестник Российского государственного медицинского университета. 2004. Т. 3, № 34. С. 179.
4. Boscan, P. Somatic nociception activates NK1 receptors in the nucleus tractus solitarius to attenuate the baroreceptor cardiac reflex / P. Boscan, S. Kasparov, J. F. R. Paton // European Journal of Neuroscience. 2002. Vol. 16. P. 907–920.
5. Boscan, P. Role of the solitary tract nucleus in mediating nociceptive evoked cardiorespiratory responses / P. Boscan, J. F. R. Paton // Autonomic Neuroscience – Basic and Clinical. 2001. Vol. 86. P. 170–182.
6. Boscan, P. Nociceptive afferents selectively modulate the cardiac component of the peripheral chemoreceptor reflex via actions within the solitary tract nucleus / P. Boscan, J. F. R. Paton // Neuroscience. 2002. Vol. 110, № 2. P. 319–328.
7. Boscan, P. The nucleus of the solitary tract: an integrating station for nociceptive and cardiorespiratory afferents / P. Boscan, A. E. Pickering, J. F. R. Paton // Experimental Physiology. 2002. Vol. 87, № 2. P. 259–266.
8. Le Bars, D. Animal Models of Nociception / D. Le Bars, M. Gozariu, S. W. Cadden // Pharmacological Reviews. 2001. Vol. 53, № 4. P. 597–652.
9. Prudnikau, H. A. Simulation of the Neuronal Interactions and Connection of Neuronal Activity with Changes of Heart Rhythm and Myocardial Electrophysiological Properties / H. A. Prudnikau // Annals of the New York Academy of Science. 2005. Vol. 1048. P. 418–421.
10. Toney, G. M. Time-dependent inhibition of hindlimb somatic afferent inputs to nucleus tractus solitarius / G. M. Toney, S. W. Mifflin // Journal of Neurophysiology. 1994. Vol. 72. P. 63–71