

ПЕРИОД ПОСТАКТИВАЦИОННОЙ ДЕПРЕССИИ СИМПАТИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ И ЕГО СВЯЗЬ С АКТИВНОСТЬЮ СИМПАТИЧЕСКОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

В. А. Цырлин^{1,2,3}

¹ ФГБУ «Северо-Западный Федеральный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

² ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

³ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»

Контактная информация:

Цырлин Виталий Александрович,
ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России, пр. Пархоменко, 15,
Санкт-Петербург, 194156.
Тел./Факс: +7(812)702-37-01.
E-mail: tsyrlin@almazovcentre.ru

*Статья поступила в редакцию
30.04.15 и принята к печати 12.05.15.*

Резюме

В острых опытах на нормотензивных кошках и крысах (как нормотензивных, так и с моделями артериальной гипертензии) изучен характер рефлекторного торможения электрической активности симпатических нервов при стимуляции афферентных волокон в составе кожных или вегетативного нервов. Отмечено, что у наркотизированных животных рефлекторный разряд в симпатических нервах сопровождается торможением их электрической активности. Величина «молчащего» периода не связана с активностью симпатической нервной системой, но увеличивается при введении животным общих анестетиков. Высказывается предположение, что торможение активности симпатической нервной системы при активации низкопороговых афферентных волокон обусловлено процессами, не связанными с активностью преганглионарных нейронов спинного мозга.

Ключевые слова: электрическая активность симпатических нервов, молчащий период, лабораторные животные, рефлекторный разряд

Для цитирования: Цырлин В. А. Период постактивационной депрессии симпатических нейронов и его связь с активностью симпатической нервной системы. Трансляционная медицина. 2015;2(4):14–19.

THE PERIOD OF SYMPATHETIC NEURONS POSTACTIVATING DEPRESSION AND ITS CONNECTION WITH THE SYMPATHETIC NERVOUS SYSTEM ACTIVITY

V. A. Tsyrlin^{1,2,3}

¹ Federal Almazov North-West Medical Research Centre, St Petersburg, Russia² First Pavlov State Medical University, St Petersburg, Russia

³ St Petersburg State University, St Petersburg, Russia

Corresponding author:

Vitaliy A. Tsyrlin,
Federal Almazov North-West Medical
Research Centre, 2 Akkuratova street,
St Petersburg, Russia, 197341
Phone: +7 (812)702-37-01.
E-mail: tsyrlin@almazovcentre.ru

Received 30 April 2015;
accepted 12 May 2015.

Abstract

In acute experiments in normotensive cats and rats normotensive and hypertensive the reflexory inhibition of the sympathetic nerves upon stimulation of skin and autonomic nerves afferent fibres was studied. It was shown that the reflexory discharge in sympathetic nerves of anesthetized animals is accompanied by subsequent inhibition of their electrical activity. Amplitude of the «silent period» was not connected to sympathetic nervous system activity, but increased after injection of general anesthetics to animals. Inhibition of sympathetic nerves electrical activity upon activation of low level afferent fibres is considered to be non-dependent upon preganglionic neurons of spinal cord function.

Key words: electrical activity of sympathetic nerve, the silent period, laboratory animals, reflexory discharge.

For citation: Tsyrlin VA. The period of sympathetic neurons postactivating depression and its connection with the sympathetic nervous system activity. Translational Medicine. 2015;2(4):14–19.

Введение

Известно, что тормозные механизмы, регулирующие активность симпатических нейронов спинного мозга, и, соответственно, принимающих участие в формировании уровня артериального давления, связаны с двумя системами — системой механорецепторных рефлексов с сино-каротидно-аортальной зон и системой рефлексов с низкопороговых афферентных волокон спинальных нервов. Если падение артериального давления, возникающее при активации барорецепторов дуги аорты и каротидных синусов, хорошо изучено и подробно описано [1], то организация депрессорных реакций, обусловленных активацией афферентных волокон в составе кожных, мышечных или вегетативных нервов, исследована значительно меньше. Мало изученным остается вопрос о том, как исходная активность симпатической нервной системы влияет на длительность периода постактивационной де-

прессии симпатических нейронов, возникающего после возникновения рефлекторного разряда при сомато- или висцеросимпатических рефлексах. Анализу этих вопроса и посвящена настоящая работа.

Материалы и методы

Всего было проведено 3 серии наблюдений. В первой серии опыты проводились на кошках с целостным мозгом, оперированных под эфирным наркозом (наблюдения осуществлялись через 2–2,5 часа после оперативной подготовки), животных, оперированных под хлоралозным наркозом (хлоралоза до оперативной подготовки вводилась внутривентриально в дозах 40–70 мг/кг), и спинальных (перерезка спинного мозга осуществлялась на уровне VI–VII сегментов под эфирным наркозом) кошек (всего 80 экспериментов). Во второй и третьей сериях наблюдений эксперименты (эти опыты проводились совместно с Ю. И. Щербиным и Н. В. Кузьменко) выполнены на нормотензивных

крысах в возрасте 19–24 недели и массой 310–380 г линий Wistar и Wistar-Kyoto (вторая серия) и гипертензивных крысах линии SHR и крысах линии Wistar с развившейся вазоренальной гипертензией (третья серия). Крысы линии Wistar-Kyoto являлись контролем для крыс линии SHR. Для создания вазоренальной гипертензии за 4–8 недель до опыта крыс оперировали и на левую почечную артерию накладывали серебряный зажим просветом 0,3 мм (Kent Scientific Corporation). Контроль за развитием вазоренальной гипертензии проводился каждую неделю в течение двух месяцев путём неинвазивного измерения систолического артериального давления на хвосте у бодрствующих крыс прибором ADInstruments Pty Ltd, включающим манжетку для пережатия хвоста и датчик пульса MLT125R.

В процессе проведения экспериментов по изучению характеристик периода постактивационной депрессии симпатических нейронов все животные обездвижались миорелаксантами и находились под искусственным дыханием.

В первой серии экспериментов у кошек выделялись кожная ветвь малоберцового нерва и центральный конец большого чревного нерва, которые раздражались с помощью биполярных электродов электрическим током с интенсивностью, достаточной для возбуждения как низкопороговых (A_p), так и высокопороговых (A_{II} , A_{III}) афферентных волокон (0,3–7 В, длительность стимула 0,1–0,5 мс, частота — 0,2–5 стим/с). Электрическая активность левого почечного нерва биполярно и ЭКГ во втором отведении регистрировались усилителем биопотенциалов. Почечный нерв выделялись внебрюшинно. В области V–VII шейных сегментов спинного мозга производились ламинэктомия и осуществлялась перерезка спинного мозга. Артериальное давление у животных измерялось в бедренной артерии электроманометром.

Перед проведением второй и третьей серий экспериментов у крыс выделялся левый шейный симпатический ствол. Регистрацию электрической активности осуществляли биполярными платиновыми электродами усилителем биопотенциалов с полосой пропускания 10–2000 Гц. Спонтанную (тоническую) электрическую нервную активность (после усилителя и интегрированную), пульсовое и среднее артериальное давление записывали на персональном компьютере (Pentium-S) после аналого-цифрового преобразования с частотой квантования 100 Гц на протяжении 300 с. Вызванная (рефлекторная) электрическая нервная активность (после усилителя и интегрированная) квантовалась с частотой 5,0 кГц. Амплитудные и временные характеристики рефлекса (латентный

период от момента раздражения и длительность разряда) определяли после компьютерного усреднения 20–40 реализаций. Длительность постактивационной депрессии определяли по усреднённой реализации интегрированного сигнала. При калибровке сигнала за нулевое значение интегральной активности принимали то значение, которое устанавливалось в конце опыта через 15–20 мин после остановки сердца у животного.

Для раздражения афферентных волокон на ипсилатеральной передней конечности выделяли срединный нерв. Электрическую стимуляцию осуществляли через биполярные платиновые электроды одиночными прямоугольными импульсами длительностью 0,5–1,0 мс и амплитудой 0,5–7 В.

Результаты измерений обрабатывали программой STATISTICA и представлены в виде «среднее±ошибка». Сравнение средних проводили по t-критерию Стьюдента.

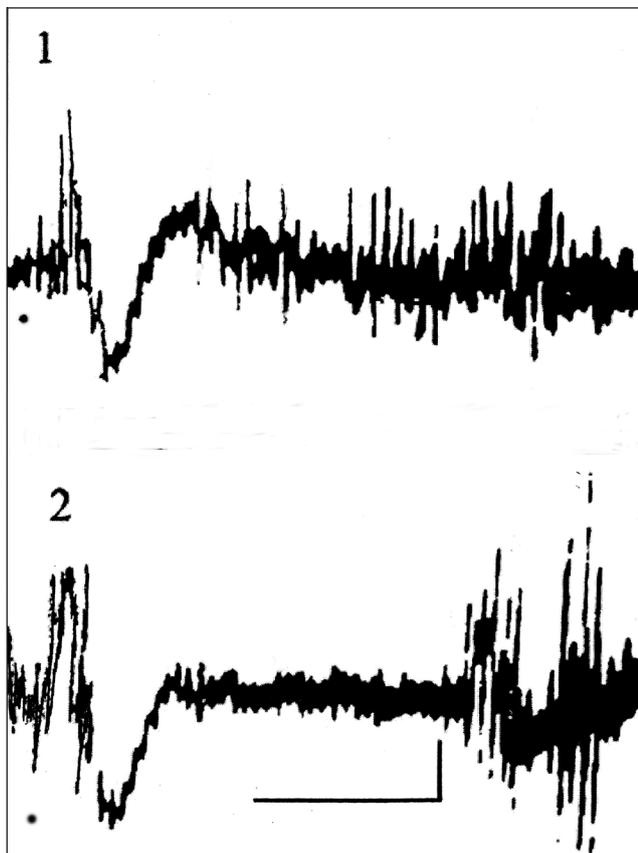
Результаты

У кошек, оперированных под эфирным наркозом, тоническая электрическая активность в почечном нерве представлена разрядами общей амплитудой 5–90 мкВ, группирующимися в характерные пачки синхронно с частотой сердечных сокращений и, соответственно, пульсовыми волнами артериального давления. Раздражение центрального конца большого чревного нерва одиночными стимулами приводило к появлению в почечном нерве рефлекторного разряда с двумя компонентами. Латентный период коротколатентного разряда в почечном нерве составлял 30–40 мс, амплитуда — 12–40 мкВ. Длиннолатентный компонент разряда возникал с латентным периодом 60–90 мс, его амплитуда составляла 25–70 мкВ. При электрическом раздражении малоберцового нерва рефлекторный ответ в почечном нерве состоял из одного компонента с характеристиками 65–110 мс и 20–50 мкВ.

Уже при минимальной (для появления вызванного ответа в почечном нерве) интенсивности раздражения афферентных волокон после рефлекторного ответа фоновая электрическая активности угнеталась. Увеличение интенсивности стимуляции приводило к увеличению амплитуды вызванного ответа и, соответственно, удлинению периода постактивационной депрессии электрической активности почечного нерва, длительность которой в среднем составляла 120–160 мс.

У животных, оперированных в условиях хлоралозного наркоза, характер фоновой электрической активности в почечном нерве был практически такой же, как у животных, оперированных под эфирным наркозом. Рефлекторный ответ при

Рисунок 1. Рефлекторный разряд и период постактивационной депрессии электрической активности почечного нерва кошки в ответ на одиночное раздражение кожной ветви малоберцового нерва до (1) и после (2) введения хлоралозы в дозе 50 мг/кг



Примечание: Точки — момент стимуляции. Калибровка — 500 мс, 50 мкВ

одиночной пороговой для возникновения разряда стимуляции афферентных нервов также состоял из двух компонентов. Существенная разница заключалась в длительности периода постактивационной депрессии — в условиях хлоралозного наркоза период постактивационной депрессии удлинялся, и его максимальная продолжительность достигала 1500 мс. Как видно из рис. 1 это же наблюдается в ситуации, когда кошкам, оперируемым под эфирным наркозом, в процессе опыта вводится хлоралоза в дозе 50 мг/кг. Если в этом случае раздражение афферентного нерва наносится частотой 5 стим/с, фоновая электрическая активность в почечном нерве практически отсутствует. При электрическом раздражении афферентного нерва с той же частотой, но интенсивностью, приводящей к активации высокопороговых афферентных волокон, на нейрограмме регистрируются вызванные ответы (рис. 2).

У спинальных кошек фоновая электрическая активность претерпевает существенные изменения. Прежде всего, нарушается группирование разрядов в соответствии с пульсовыми волнами артериального давления, отмечается значительное уменьшение средней амплитуды и частоты активности. Пороговая (для возникновения вызванного ответа) стимуляция большого чревного нерва вызывала рефлекторный ответ, состоящий из одного компонента с латентным периодом 25–35 мс и амплитудой 5–50 мкВ. Длительность периода постактивационной депрессии составляла 80–160 мс. Интересно отметить, что перерезка спинного мозга у животных, наркотизированных хлоралозой, также

Рисунок 2. Фоновая электрическая активность в почечном нерве кошки (1), электрическая активность при стимуляции малоберцового нерва с минимальной интенсивностью для возникновения рефлекторного ответа (2), с интенсивностью в 3 раза, превышающей минимальную (3)



Примечание: 1 — верхняя запись — электрическая активность, нижняя — ЭКГ; 2, 3 — верхняя запись — стимуляция кожного нерва с частотой 1 имп/с, точки — момент импульса, нижняя запись — стимуляция с частотой 5 стим/с. Черная линия — длительность стимуляции. Калибровка — 800 мс, 50 мкВ.

вызывала значительное уменьшение периода постактивационной депрессии.

Спонтанная интегрированная электрическая активность в шейном симпатическом стволе у нормотензивных крыс линии Wistar и крыс линии Wistar-Kyoto составляла $98,7 \pm 22,07$, $101 \pm 21,7$ и мкВ*с, соответственно. У гипертензивных крыс с вазоренальной гипертензией и крыс линии SHR электрическая активность в симпатическом нерве была значительно выше, чем у нормотензивных крыс, и в среднем составляла $191,5 \pm 29,31$ ($p < 0,05$) и $479,9 \pm 84,93$ мкВ*с ($p < 0,05$), соответственно. Таким образом у спонтанно гипертензивных крыс электрическая активность симпатического нерва была выше ($p < 0,05$), чем у крыс с вазоренальной гипертензией.

При раздражении афферентных волокон соматического нерва в симпатическом нерве нормотензивных крыс линии Wistar и крыс с вазоренальной гипертензией (уровень среднего артериального давления у гипертензивных крыс составлял 135 ± 6 мм рт.ст., у нормотензивных животных — 95 ± 3 мм рт.ст.) регистрировался разряд, также как у кошек состоящий из двух компонентов. У всех крыс латентные периоды, длительности и амплитуды первого компонента были примерно одинаковы. Второй компонент у крыс с вазоренальной гипертензией появлялась в среднем на 14,5 мс позже и имела амплитуду в 3 раза меньше, чем у крыс контрольной группы.

У спонтанно гипертензивных крыс линии SHR уровень артериального давления составлял 153 ± 6 мм рт.ст., у крыс линии Wistar-Kyoto — 101 ± 12 мм рт.ст. Рефлекторный разряд, вызванный у крыс линии SHR раздражением афферентного нерва, также отличается от разряда у крыс линии Wistar-Kyoto. Если латентные периоды обеих компонентов ответа практически не отличались, то амплитуда разряда у крыс линии SHR была на 72 % больше, чем у контрольных животных.

После рефлекторного разряда у всех крыс наблюдалось торможение тонической электрической активности в симпатическом нерве с последующим ее восстановлением до исходного уровня. Продолжительность торможения, определяемая как временной интервал между окончанием второго компонента разряда и моментом восстановления тонической активности, у крыс с вазоренальной моделью гипертензии составляла $389 \pm 52,8$ мс, у нормотензивных крыс линии Wistar — $275 \pm 29,0$ мс ($p < 0,05$). У крыс линии SHR эта продолжительность была $435 \pm 126,6$ мс и практически не отличалась от таковой у крыс линии Wistar-Kyoto — $447 \pm 161,1$ мс ($p > 0,05$). Отличия в продолжительности поста-

тивационного торможения между гипертензивными крысами разных линий не наблюдалось.

Обсуждение

Известно [2] что у децеребрированных или наркотизированных животных при стимуляции спинальных нервов возникает падение артериального давления. Было обнаружено, что пороги возбуждения афферентных волокон для рефлекторного падения артериального давления примерно в 30 раз ниже, чем для прессорного рефлекса. По калибру афферентных волокон «депрессорные» волокна соответствуют А-β волокнам в составе кожных или вегетативных нервов.

Как показали проведенные эксперименты, у наркотизированных животных с интактным мозгом раздражение быстропроводящих А-волокон афферентных нервов (параметры использованной стимуляции не вызывают раздражения тонких миелинизированных или безмякотных афферентных волокон) одиночными стимулами вызывает в симпатических нервах почки вспышку импульсов и последующее длительное торможение тонических разрядов, которое усиливается при ритмической стимуляции. Ранее было показано, что период угнетения электрической активности симпатических нервов при одиночном раздражении афферентных волокон спинальных нервов может наблюдаться и без предшествующего вызванного ответа [3], если активируются только афферентные волокна группы АII. Следовательно, термин «период постактивационной депрессии симпатических нейронов», часто используемый при обозначении торможения симпатической активности при раздражении афферентного нерва, является не совсем корректным. Вероятно, более правильным для обозначения этого феномена является термин «молчащий период».

Для понимания механизма возникновения «молчащего периода» необходимо понять, с какими нервными структурами связано его возникновение и как изменение активности симпатической нервной системы отражается на его длительности при рефлекторных реакциях. С этой целью в наших исследованиях были использованы крысы с двумя моделями артериальной гипертензии — вазоренальной гипертензией и спонтанно-гипертензивные крысы. Известно, что у животных с этими моделями гипертензии активность симпатической нервной системы повышена [4]. Результаты проведенных экспериментов показали, что величина «молчащего» периода у крыс с вазоренальной гипертензией была больше, а у крыс линии SHR меньше, чем в контроле. Таким образом, корреляции между длительностью угнетения электрической активности

симпатических нервов после рефлекторного разряда и величиной спонтанной электрической активности не обнаружено. Следовательно, исходная активность симпатической нервной системы не отражается на величине ее постактивационного угнетения после рефлекторной активации. В попытке изучить механизм возникновения «молчащего периода» исследовался изолированный спинной мозг крысы в неонатальном периоде [5]. Авторы показали, что «молчащий период» не обусловлен процессами, происходящими непосредственно в преганглионарных нейронах. По мнению исследователей [5], в происхождении периода постактивационной депрессии симпатических нейронов спинного мозга имеют значения опиоидергические механизмы, функционирующие во вставочных нейронах вне преганглионарных нервных клеток. Интересно отметить, что на величину «молчащего периода» влияют и нервные структуры супрасегментарного уровня. Об этом свидетельствуют как данные Iwamura et al. [6], показавшие, что коагуляция продолговатого мозга в вентральных отделах ведет к исчезновению периода торможения электрической активности симпатического нерва после предшествующего рефлекторного разряда, так и наши наблюдения об уменьшении длительности «молчащего периода» после спинализации кошек.

Как свидетельствуют литературные наблюдения и результаты проведенных экспериментов удлинение периода постактивационной депрессии у животных с целостным мозгом наблюдается после введения общих анестетиков. Ранее нами было показано [7], что общие анестетики растормаживают нейроны вентромедиальной ретикулярной формации, активация которых (прямо или рефлекторно) вызывает депрессорные реакции артериального давления, а коагуляция, как отмечено выше [6], — к исчезновению периода постактивационной депрессии.

Результаты проведенного исследования показали, что у спинальных кошек период угнетения фоновой электрической активности после афферентного раздражения не превышает длительности следовой гиперполяризации нейронов симпатического ганглия. Известно, что в ганглионарных нейронах следовая гиперполяризация длится более длительный период, чем в центральных нейронах [8]. Вероятно, именно этим обстоятельством и объясняется менее длительный «молчащий период» при регистрации электрической активности у крыс, так как шейный симпатический нерв состоит, преимущественно, из преганглионарных симпатических волокон, а почечный нерв — из постганглионарных.

Список литературы / References

1. Шляхто Е. В., Плисс М. Г., Цырлин В. А. Барорецепторный рефлекс и долговременная регуляция артериального давления. СПб., 2011. 153 с. [Tsyrlin VA, Kuzmenko NV, Pliss MG, Rubanova NS. Baroreceptor reflex and long-term regulation of blood pressure. StPetersburg. 2011:153 pp. In Russian].
2. Хаютин В. М. Сосудодвигательные рефлексы. М: Наука, 1964. 376 с. [Hayutin VM. Vasomotor reflexes. Moscow: Nauka, 1964. 376 p. In Russian].
3. Lukoshkova EV, Pavlik G. Post-tetanic facilitation of vasomotor reflexes elicited by electrical stimulation of spinal afferents. Pflug Arch. 1972;336:134–146.
4. Шляхто Е. В., Конради А. О., Цырлин В. А. Вегетативная нервная система и артериальная гипертензия. СПб, 2008. 312 с. [Shlyakhto EV, Konradi AO, Tsyrlin VA. Autonomic nervous system and arterial hypertension. St Petersburg, 2008. 312 p. In Russian].
5. McKenna KE, Schramm LP. Mechanisms mediating the sympathetic silent period: studies in the isolated spinal cord of the neonatal rat. Brain Res. 1984;329(1–2):233–240.
6. Iwamura Y, Uchino Y, Orawa S et al. Excitatory and inhibitory components of somato-sympathetic reflex. Brain Res. 1969;16:351–358.
7. Цырлин В. А. Влияния нейротропных средств на интрацентральные взаимоотношения различных уровней регуляции артериального давления. В кн.: Нейрофармакология процессов центрального регулирования. Л., 1969. С. 331–387. [Tsyrlin VA. Neurotropic drugs influence on neurotropic interstitial relations of different levels of blood pressure regulation. In: Neuropharmacology central management processes. Leningrad, 1969. P. 331–387. In Russian].
8. Скок В. И. Физиология вегетативных ганглиев. Л.: Наука, 1970. 234 с. [Skok VI. Physiology of autonomic ganglia. Leningrad: Nauka, 1970. 234 p. In Russian].

Информация об авторах:

Цырлин Виталий Александрович — профессор, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник отдела экспериментальной физиологии и фармакологии Института экспериментальной медицины ФГБУ СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России; Кафедра фармакологии ГБОУ ВО «СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова» Минздрава России; Кафедра фармакологии медицинского факультета ФГБОУ ВО «СПбГУ».

Author information:

Vitaliy A. Tsyrlin, MD, Professor, Chief Researcher of Experimental Physiology and Pharmacology Department of Institute of Experimental Medicine of Federal Almazov North-West Medical Research Centre; Department of Pharmacology of First Pavlov State Medical University; Department of Pharmacology of Medical Faculty of St Petersburg State University.