

НАРУШЕНИЕ ЦИРКАДИАННОГО КОНТРОЛЯ НОЦИЦЕПТИВНЫХ РЕФЛЕКСОВ, УРОВНЯ АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ И ГЛУБОКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ ТЕЛА ПОСЛЕ ДЕСТРУКЦИИ СУПРАХИАЗМАТИЧЕСКИХ ЯДЕР У КРЫС

Биологическая ритмичность функционирующих систем живых организмов обеспечивает приспособление организма к внешней среде. Периодичность характерна различным уровням организации биосистем: клеточным, органным, организменным, популяционным. Установлено, что эндогенные ритмы периодичности живых организмов находятся под контролем специализированных нервных клеток, своеобразных индукторов суточных ритмов, так называемых осцилляторов. Выделена многоосцилляторная циркадианная система организма, звенья которой включают пейсмекеры периодических процессов. В ряде экспериментов исследователями установлена координирующая роль супрахиазматических ядер (СХЯ) в функционировании циркадианной системы [3, 4, 6]. Эти ядра оказывают влияние на локомоторную активность, цикл сон – бодрствование, температурную регуляцию, пищевое и водное потребление и иные функ-

ции, а также на активность ацетилсеротонин-метилтрансферазы в эпифизе [8]. Доказана регулирующая роль эпифиза и его основного гормона мелатонина в организации циркадианных и цирканнуальных ритмов. В литературе встречается мнение о возможности реципрокных отношений в системе супрахиазматические ядра – эпифиз. Информацию о состоянии внешней освещенности пинеальная железа получает от СХЯ. Эпифиз, в свою очередь, гуморальным путем (посредником является мелатонин) по принципу обратной связи ограничивает ритмичность и метаболические процессы в этих ядрах [2]. Внутренние биологические часы определяют ритм деятельности организма, нарушение которого приводит к рассинхронизации в работе его систем [6, 7] и как следствие, возможности появления депрессивных состояний. Последние могут повлечь за собой и психические расстройства (аффективные и тревожные состояния, шизофреноподобные и эпилептоидные статусы). Координирующая роль супрахиазматических ядер гипоталамуса в организме изучена слабо. Остается ряд спорных вопросов [10], касающихся контроля тех или иных систем организма с учетом периодичностей. Сказанное выше явилось предпосылкой для проведения экспериментальных исследований, направленных на изучение роли супрахиазматических ядер в регуляции циклических процессов, в частности, в системе контроля артериального давления и ноцицептивных реакций.

Материалы и методы исследования. В опытах на ненаркотизированных белых крысах-самцах ($n=14$) массой тела 240-260 г оценивали динамику латентного периода рефлекса отдергивания хвоста, глубокую температуру тела и уровень артериального давления после деструкции супрахиазматических ядер.

Операционные процедуры выполняли под кетамин-ксилазин-ацепромазиновым (55,6, 5,5 и 1,1 мг/кг, соответственно, внутривентриально) наркозом. Перед началом операции подкожно вводили антибиотик широкого спектра действия (гентамицин – 0,2 мг/кг). Стереотаксические координаты структур ствола головного мозга рассчитывали по атласу мозга крысы ($R-C$ 1,2 мм; L 0 мм, H 9,4 мм) [9]. Микроинъекцию осуществляли билатерально, используя нанолитровую помпу (WPI, USA) со стеклянной микропипеткой. В исследуемые структуры вводили 100 нл каиновой кислоты (в течение 2 мин, со скоростью 50 нл/мин, 2 мг/мл).

Среди экспериментальных животных выделены крысы, у которых осуществляли трепанацию черепа ($n=6$), и крысы, которым вводили нейротоксин в супрахиазматические ядра (СХЯ) гипоталамуса ($n=8$).

Животные содержались в стандартных условиях вивария (температура воздуха 21 ± 1 С, 12-часовое искусственное освещение) при свободном доступе к воде и пище. Предварительно (за 3 недели до начала эксперимента) крыс адаптировали к экспериментальным условиям (хендлинг в течение 2-3 дней, затем 9-10 тренировок, начиная с 30 мин, и затем по 2-4 ч в специальных боксах, в которых животные могли совершать движения в rostro-каудальном направлении и вокруг собственной оси) [1]. С целью учета влияний циркадианных ритмов на регистрируемые показатели эксперименты начинались в 9.30-10.00 утра и 17.30-18.00 вечера. Для проведения опытов боксы с животными располагали в термостатах при температуре 29,9 С и относительной влажности 50% (термонейтральные условия для крыс) в течение 50-60 мин, после чего начинали измерения показателей.

Порог болевой чувствительности оценивали по латентному периоду реакции отдергивания хвоста (латентный период РОХ) в ответ на термический ноцицептивный немеханический стимул (погружение хвоста в воду (50°С) на две трети его длины) [1]. Уровень системного артериального давления (АД) регистрировали в регионе хвостовой артерии «манжеточным» способом [5]. Данный способ

основан на сравнении в инфракрасных лучах оптической плотности тканей хвоста до и после пережатия хвостовой артерии с помощью пневмоманжеты, соединенной с датчиком давления. В качестве излучателя использовали инфракрасный светодиод АЛ-107, а в качестве фотоприемника – фотодиод ФД-256 (UB Inc., РБ). Для оценки глубокой температуры тела (T_t) через анальное отверстие на глубину 9-10 см в толстую кишку вводили термодатчик (электротермометр фирмы «Physitemp», США) [5]. Исследуемые показатели регистрировали до (1-е, 3-и и 7-е сутки) и после (3-и, 7-е, 14-е и 28-е сутки) операции. Регистрацию каждого показателя повторяли не менее трех раз с интервалом 5-10 мин.

Статистическую обработку данных проводили с использованием t -критерия Стьюдента и программы вариационной статистики ANOVA. Различия считали значимыми при $P < 0,05$ и $P < 0,01$. На рисунках и в тексте результаты представлены в виде $M \pm m$.

Результаты и их обсуждение. На протяжении недели до операции у всех экспериментальных животных ($n=14$) наблюдалось систематическое снижение ($P < 0,05$) уровня АД в вечерние часы по сравнению с утренними измерениями. Закономерных колебаний глубокой температуры тела в утренние и вечерние периоды наблюдений обнаружено не было. Последнее предположительно связано с одновременным подъемом как утреннего, так и вечернего уровней температуры, как до операции, так и на протяжении месяца измерений после операции у опытной и контрольной групп крыс.

До хирургического вмешательства по характеру изменения латентного периода РОХ можно выделить две группы крыс: одну группу с увеличением, а вторую с уменьшением латентного периода РОХ в вечерние часы. У животных наблюдали циркадианную динамику изменения исследуемого показателя, что еще раз подтверждает зависимость ноцицептивных процессов организма от околосуточных ритмов.

В острый послеоперационный период (3-и сутки) выявлено более выраженное снижение АД в вечерние часы (рис. 1) у животных, которым вводили нейротоксин в ядра гипоталамуса. После разрушения нейронов каинатом обнаружено изменение направленности величины (паттерна) артериального давления в вечерне-утренние часы измерений на 7-е сутки у 50%, 14-е – у 25% и 28-е ($P < 0,05$) – у 12,5% животных. Так, у крыс разрушение исследуемых ядер повлекло за собой увеличение АД в вечерние часы суток (рис. 2, Б). У контрольной группы крыс в послеоперационный период не обнаружено подобных трансформаций вечернего уровня АД (рис. 2, А). На протяжении послеоперационного месяца измерений у всех животных ($n=14$), независимо от типа операции, обнаружено постепенное уменьшение уровня АД в утреннее время в каждые последующие сутки, что свидетельствует об адаптационных процессах у крыс. На протяжении всего эксперимента более стабильным оказался уровень вечернего АД.

На 3-и и 7-е сутки после деструкции супрахиазматических ядер у животных с характерным увеличением T_t в вечерние дооперационные часы измерений выявлены изменения разницы ($P < 0,05$, $P < 0,01$ соответственно) температуры в вечерние и утренние часы (рис. 3). Разрушение СХЯ привело к изменению циркадианного контроля температуры у крыс. В частности, глубокая температура вместо индивидуального типичного увеличения или, наоборот, снижения в вечерние часы сменила направленность на 3-и и 7-е (75%), 14-е (37,5%), 28-е (62,5%) сутки.

Операционные процедуры с введением нейротоксина в супрахиазматические ядра привели к изменениям вечерне-утренней разницы ($P < 0,05$) на 3-и сутки у крыс с уменьшением и на 7-е сутки с увеличением латентного периода РОХ у животных в вечерние часы суток (рис. 4, 5 соответственно).

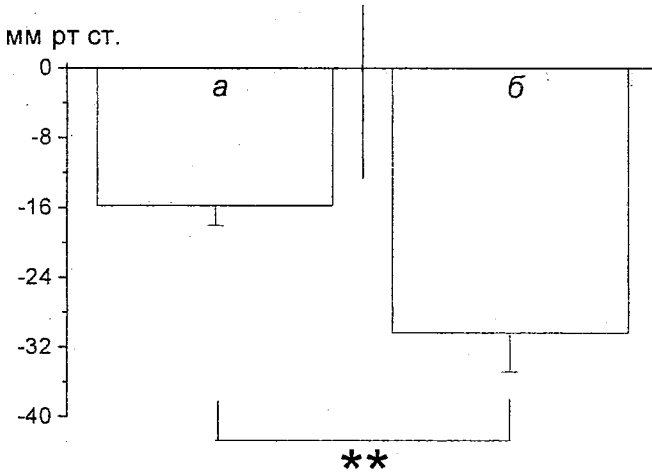


Рис. 1. Артериальное давление (в мм рт. ст.) в регионе хвостовой артерии крыс до (а) и через три дня (б) после разрушения супрахиазматических ядер гипоталамуса.
 ** – $P < 0,01$

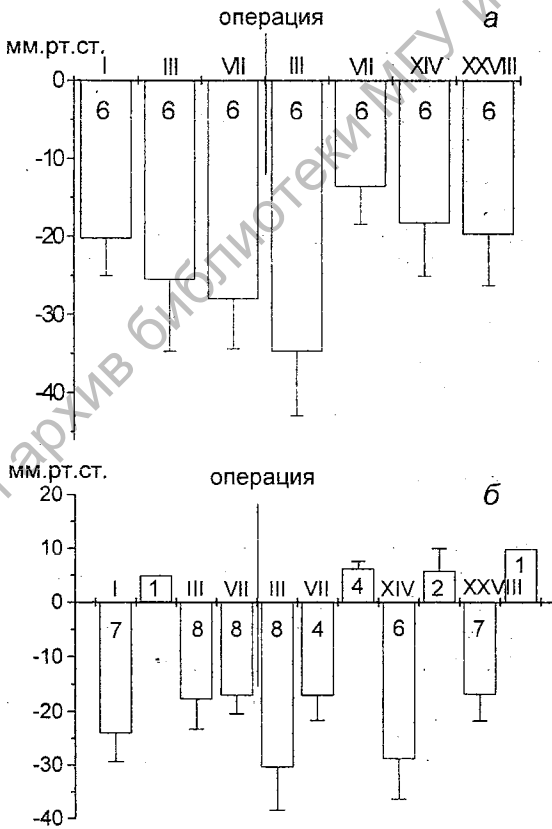


Рис. 2. Разница между уровнями артериального давления у крыс в вечернее и утреннее время до (I, III, VII) и после (III, VII, XIV, XXVIII) операционных манипуляций: а – крысы, у которых была осуществлена трепанация черепа, б – группа крыс, которым вводили нейротоксин в супрахиазматические ядра гипоталамуса. Количество животных обозначено арабскими цифрами внутри столбцов

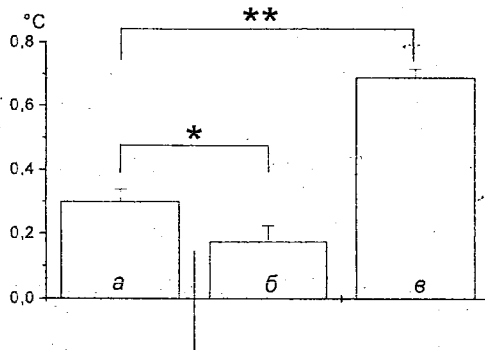


Рис. 3. Глубокая температура тела (в °C) крыс до (а), через три (б) и семь (в) дней после разрушения супрахиазматических ядер гипоталамуса.
* – $P < 0,05$ и ** – $P < 0,01$

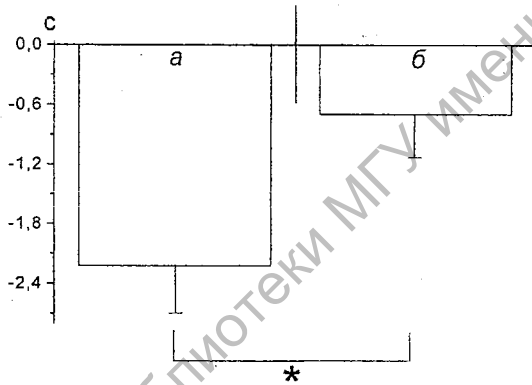


Рис. 4. Латентный период рефлекса отдергивания хвоста (в сек) у крыс до (а) и через три дня (б) после деструкции супрахиазматических ядер гипоталамуса.
* – $P < 0,05$

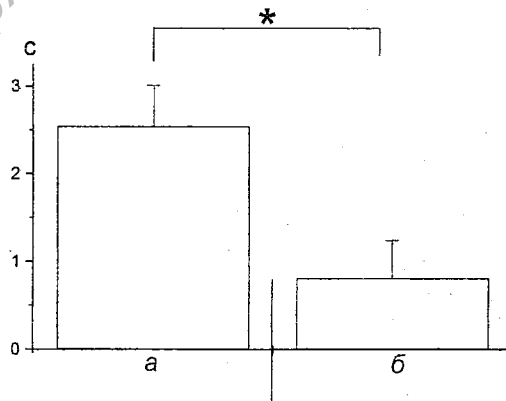


Рис. 5. Латентный период рефлекса отдергивания хвоста (в секундах) у крыс до (а) и через семь дней (б) после деструкции супрахиазматических ядер гипоталамуса.
* – $P < 0,05$

В процессе мониторинга показателей массы тела крыс на протяжении месяца исследований (3-и, 7-е, 14-е и 28-е сутки) выявлено, что на 3-и сутки только у трех крыс происходило снижение массы тела, а у всех остальных животных на 3-и и во все последующие сутки измерений наблюдался естественный прирост массы тела. Этот факт интересен с прикладной точки зрения, поскольку ранее полученные экспериментальные данные [1] по разрушению структур каудальных отделов ствола головного мозга демонстрируют пролонгированное снижение массы тела в острый (до 3-5 суток после операции) период после стереотаксических процедур.

В ходе экспериментов обнаружено, что после локального разрушения нейротоксином (100 нл каиново́й кислоты в течение 2 мин, 50 нл/мин, 2 мг/мл) популяций нейронов супрахиазматических ядер гипоталамуса происходит пролонгированное нарушение суточного контроля артериального давления в регионе хвостовой артерии и рефлекса отдергивания хвоста у крыс (n=14). Полученные экспериментальные факты продемонстрировали ключевую роль основного осциллятора циркадианных ритмов в координации системы контроля периодичностей в организме, в частности, тех ее элементов, которые регулируют ноцицептивные рефлексы и уровень артериального давления.

Работа выполнена в рамках проекта Государственной программы прикладных исследований «Биоанализ и диагностика» (№ госрегистрации 2004/24-87). Финансирование экспериментов частично осуществлялось Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований (гранты Б04МС-010 и Б04М-076, Б05М-003) и НАН Беларуси (грант №2005546, 2004/24-87).

ЛИТЕРАТУРА

1. Антипенко А.А., Цвекевич В.В. Влияние билатеральной деструкции нейронной области *subcoeruleus* на порог ноцицептивных реакций крыс // Рецензируемый сборник трудов молодых ученых НАН Беларуси. – 2004. – Т. 3. – С. 112-115.
2. Арушанян Э.Б., Батурич В.А., Попов А.В. О реципрокных взаимоотношениях между эпифизом и супрахиазматическими ядрами гипоталамуса в процессе перестройки циркадианной подвижности крыс при изменении светового режима // Журн. высш. нерв. деят. – 1993. – Т. 43. – № 1. – С. 69-75.
3. Арушанян Э.Б., Бейер Э.В. Супрахиазматические ядра гипоталамуса и организация суточного периодизма // Хронобиология и хрономедицина / Под ред. Ф.И. Комарова. – М.: Триада-Х, 2000. – С. 50-64.
4. Владимиров С.В., Урюмов М.В. Супрахиазматическое ядро гипоталамуса: роль в регуляции циркадианных ритмов, строение, нервные связи, развитие в онтогенезе // Успехи соврем. биол. – 1995. – Т. 115. – Вып. 2. – С. 185-197.
5. Песоцкая Я.А., Нетукова Н.И., Слинко С.К. и др. Цитоархитектоника сегментарных и надсегментарных отделов мозга в разные периоды наблюдения после высокой грудной эпидуральной анестезии // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. – 2005. – № 1. – С. 26-30.
6. H.O. de la Iglesia, Cambas T., Schwartz W.J., A.D.-N. Forced. Desynchronization of Dual Circadian Oscillators within the Rat Suprachiasmatic Nucleus // Current Biology. – 2004. – Vol. 14. – P. 796-800.
7. Janssen B.J., Tyssen C.M., Duindam H. et al. Suprachiasmatic lesions eliminate 24-h blood pressure variability in rats // Physiol. Behav. – 1994. – Vol. 55. – P. 307-311.
8. Moore R.Y. Neuronal Control of the pineal-gland // Behav. Brain Res. – 1995. – Vol. 73, № 1-2. – P. 125-130.
9. Paxinos G., Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic coordinates. Academic Press. Orlando. F.L., 1986.
10. Rietveld W.J., Kooij M., Aardoom O.R., Boon M.E. The role of the dorsomedial hypothalamic nucleus in circadian control of food intake in rat // Neurosci. Lett. – 1983. – V. 14, Suppl. 1. – P. 310-311.

SUMMARY

It has been discovered that after local destruction with neurotoxin (100 nl of kainic acid, during 2 min, 50 nl/min, 2 mg/ml) neuron population supraschiasmatic nuclears hipotalamus prolonged disturbance of twenty four hours control of arterial pressure in tail arteria region and tail-flick reflex of rat (n=14). Reseived experimental data showed key role of basic oscillator of circadian rythms in coordination of control system of periodical processes in the body, that is those elements, which regulate nocicepting reflexes and the level of arterial pressure.