

УДК 612.338:557.113.3

М.В. Головач**РЕАКЦИИ ВИСЦЕРАЛЬНЫХ НЕРВОВ У КРЫС
НА ИНФУЗИЮ В ПРОСВЕТ ТОЩЕЙ КИШКИ
АДЕНОЗИНА И АМИНОФИЛЛИНА**

Излагаются результаты исследования, которые свидетельствуют о том, что уровень тонической активности симпатических эфферентных волокон тощей кишки и селезеночного нерва зависит от афферентной сигнализации, поступающей в нервные центры от рецепторов тонкого кишечника. Причем действие аденозина со стороны слизистой оболочки тощей кишки проявляется в симпатизирующих (для брыжеечных нервов тощей кишки) и симпатингибирующих рефлекторных реакциях (для селезеночного нерва). Результаты исследований указывают на существование неизвестного ранее механизма модулирующих рефлекторных влияний на иммунное состояние селезенки и, вероятно, других иммунокомпетентных органов.

Введение

Процессы управления деятельностью внутренних органов и функциональных систем зависят от состояния гуморальной среды организма, определяемого содержанием в крови и тканях комплекса биологически активных веществ (интерлейкины, простагландины, гормоны, нейропептиды и иные), которые способны проникать в мозг и модулировать активность нейронов в нервных центрах [1, 2]. Очевидно, что отмеченный гуморальный путь функционирует параллельно с нервным, образованным чувствительными волокнами с их рецепторными приборами в органах. Кишечник представляет собой огромное рецептивное поле, и возбуждение начинающихся здесь афферентных волокон связано не только с процессами пищеварения, но и с локальными иммунными реакциями, протекающими в стенке кишки. Экспериментально доказано, что рецепторы чувствительных волокон активируются в том числе и физиологически активными веществами [1, 6, 7, 9, 10].

Внеклеточные пурины рассматриваются как сигнальные молекулы, вызывающие многочисленные биологические эффекты посредством пуринорецепторов на поверхности клеток [3, 11, 12]. Эпителиоциты ЖКТ первыми взаимодействуют с пищевыми нуклеотидами и нуклеозидами, а энтероциты транспортируют пурины к другим типам клеток. АТФ и аденозин рассматривают в качестве сигнальных молекул, вызывающих различные биологические эффекты посредством активации пуринорецепторов на поверхности клеток [3] и в том числе на энтероцитах кишечного эпителия, где могут влиять на его дифференциацию [4]. Внутривенная и внутриартериальная инфузия аденозина анестезированным крысам вызывала эффект усиления афферентной активности в брыжеечных нервах тощей кишки и повышение внутрикишечного давления у крыс [5]. Однако в литературе недостаточно сведений о характере влияния пуринов на окончания афферентных волокон в слизистой оболочке кишечника и о возможных эффектах изменения активности симпатических эфферентных волокон вегетативных нервов, реализуемых в порядке интероцептивного рефлекса.

К настоящему времени установлено, что эндотелиоциты, тучные клетки и другие иммунокомпетентные клетки, эпителиоциты кишечника после стимуляции бактериальными липополисахаридами продуцируют ряд биологически активных веществ протеиновой и свободнорадикальной (H_2O_2 , NO) природы. Некоторые из них – простагландины, интерлейкины, NO (монооксид азота) – способны оказывать модулирующее влияние на активность рецепторов и афферентных волокон [6, 7]. Пуринергические, также как и NO-ергические процессы, рассматриваются сегодня в качестве клю-

чевых механизмов, ответственных за сенситизацию и возбуждение окончаний чувствительных волокон внешних нервов кишки [6, 7]. Постоянное дополнение списка рецепторных субъединиц, способных связываться с сигнальными молекулами пуриновой природы (P1 – A₁, A_{2a}, A_{2b}, A₃ для аденозина; P2 с 18-ю подтипами [3–5] для АТФ и его метаболитов), указывает на высокую актуальность исследований в этом направлении. В литературе постулировано симпатическое управление функциями селезенки, но рассматриваются в основном центральные или системные механизмы. Рефлекторные влияния на селезенку с рецепторов кишки не изучены. Поэтому настоящая работа предпринята с целью решения отмеченных вопросов.

Объект и методика исследований

Целью настоящей работы явилось изучение влияния экзогенного аденозина и аминофиллина на активность нервных волокон тощей кишки и селезенки. Мы предполагали, что возбуждение афферентных волокон имеет место и при введении экзогенного аденозина в тонкий кишечник и что действие препарата и аминофиллина сказывается на активности симпатических эфферентных волокон селезенки. Исследование выполнено на базе ГНУ «Институт физиологии» НАН Беларуси.

Экспериментальный материал получен в острых опытах на 45 белых крысах обоего пола массой 230–350 г. Для унификации условий за 1 сутки до эксперимента животных лишали пищи при свободном доступе к воде. Наркоз осуществляли путем внутривентрикулярной инъекции тиопентала натрия (70 мг/кг). Исследуемый участок кишки извлекали из брюшной полости и размещали на утепленной полиэтиленовой пленке, смоченной раствором Рингера – Локка. Объект располагали на грелке, температура которой постоянно поддерживалась на уровне +28–30°C, при этом кишечник крысы размещали на участке грелки с температурой +36–37°C. Регистрировали афферентную или эфферентную импульсацию соответственно в периферических или центральных отрезках брыжеечных нервов тощей кишки, а также электрическую активность симпатических эфферентных волокон в центральном конце селезеночного нерва.

В экспериментах использованы: аминофиллин (неселективный антагонист аденозиновых рецепторов A1 и A2 [2], 12,5 мг), аденозин (агонист аденозиновых рецепторов [5], 1 мг) и в качестве контроля 0,9-процентный изотонический апиригенный раствор NaCl. Тестируемые препараты растворяли в 0,5 мл раствора хлорида натрия, подогретого до +37°C. Растворы инфузировали через катетер, введенный в соответствующий участок кишки (в краниальный отдел тощей кишки на расстоянии 7–8 см от желудка) за 60 мин до начала регистрации. Проводили контроль pH используемых растворов.

Для регистрации тонической импульсации центральные или периферические концы волокон соответствующих нервов накладывали на биполярные хлорсеребряные отводящие электроды с расстоянием между полюсами 2 мм и покрывали вазелинопарафиновой смесью, подогретой до +37°C.

В полость тела помещали индифферентный электрод. После установки электродов открытые части внутренних органов изолировали от окружающей среды утепленной эластичной полиэтиленовой пленкой. Регистрацию показателей начинали не ранее 45 мин после перерезки нервов.

Электроды подключали на вход усилителя биоэлектрических потенциалов (УБФ4-03, г. Киев) с частотным диапазоном от 10 Гц до 3 кГц. После усиления сигнал подавали на вход осциллографа С1-83 для визуального наблюдения и одновременно с помощью 12-разрядного аналого-цифрового преобразователя (АЦП) марки ADC100K/12-8 (АО «Спецприбор», г. Минск) записывали при помощи программы Input-12 [8] в цифровом коде на жестком диске компьютера в виде файлов (продолжи-

тельность накопления сигналов в каждом файле – 5 секунд) через равномерные интервалы – каждые 5 мин на протяжении 25 секунд для афферентной и эфферентной импульсации.

Все полученные данные статистически обработаны с применением t-критерия Стьюдента. Различие сравниваемых показателей считалось достоверным при $P \leq 0,05$. Все приводимые ниже цифры констатируют статистически значимые отличия от контроля.

Результаты исследований и их обсуждение

Особенности изменений афферентной и симпатической эфферентной импульсации в брыжеечных нервах при действии экзогенного аденозина на рецепторы тощей кишки.

Для афферентных волокон краниальных брыжеечных нервов тощей кишки характерна сравнительно интенсивная фоновая импульсация (рисунок 1, Б1). Внутривентральному введению в эту кишку 0,5 мл изотонического раствора ($n = 6$) сопутствовали в течение полутора часов наблюдения незначительные и недостоверные ($P \geq 0,05$) изменения частоты нервной активности в краниальных брыжеечных нервах (рисунок 1, А1). В другой серии опытов после инъекции в тощую кишку 1 мг аденозина происходило достоверное ($P \leq 0,05$) усиление частоты разрядов в брыжеечных нервах тощей кишки, достигающее максимума ($30,5 \pm 2,4\%$ превышение над фоном) к 5-й мин. Латентный период составил 1–2 мин. К 45-й мин этот показатель возвращался к исходному уровню электрической активности ($n = 6$) (рисунок 1, А2).

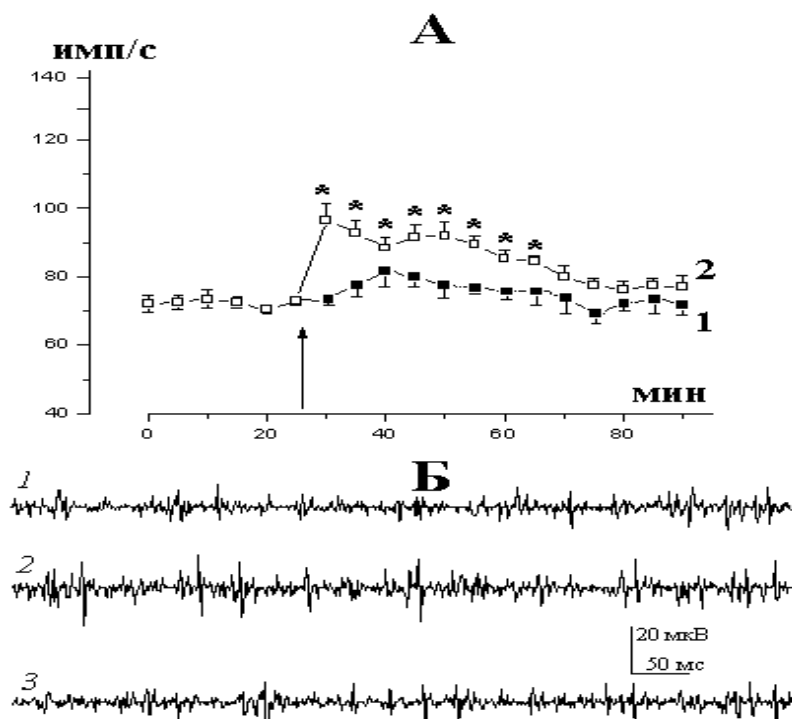


Рисунок 1 – А – Изменение частоты тонической афферентной активности в брыжеечных нервах при введении в тощую кишку изотонического раствора NaCl (1) или раствора аденозина (2). Б – Электронейрограммы афферентной активности в нервах тощей кишки: 1 – в фоне, 2 – через 5 мин после инфузии нуклеозида, 3 – через 45 мин

Примечание – Стрелкой отмечен момент введения раствора. Далее на всех рисунках ниже приняты такие же обозначения; * – $P < 0,05$ (знаком * обозначается уровень значимости изменений).

Иллюстрацией вышесказанному служат нейрограммы (рисунок 1, Б). Среднее статистически значимое изменение ритмики потенциалов действия было выше уровня фона на 22,6% (рисунок 1, А2).

В дальнейшем изучали влияние экзогенно введенного в тонкий кишечник аденозина на активность эфферентных волокон брыжеечных нервов тощей кишки по механизму интероцептивного рефлекса.

Было обнаружено, что введение в просвет тощей кишки изотонического раствора NaCl (n = 6) сопровождается кратковременным (15–25 мин) недостоверным усилением активности эфферентных волокон брыжеечных нервов тощей кишки с последующим возвратом к фоновому уровню (рисунок 2, А1). Известно, что в нормальных сегментах краниальных брыжеечных нервов регистрируется довольно интенсивная суммарная спонтанная электрическая активность [6].

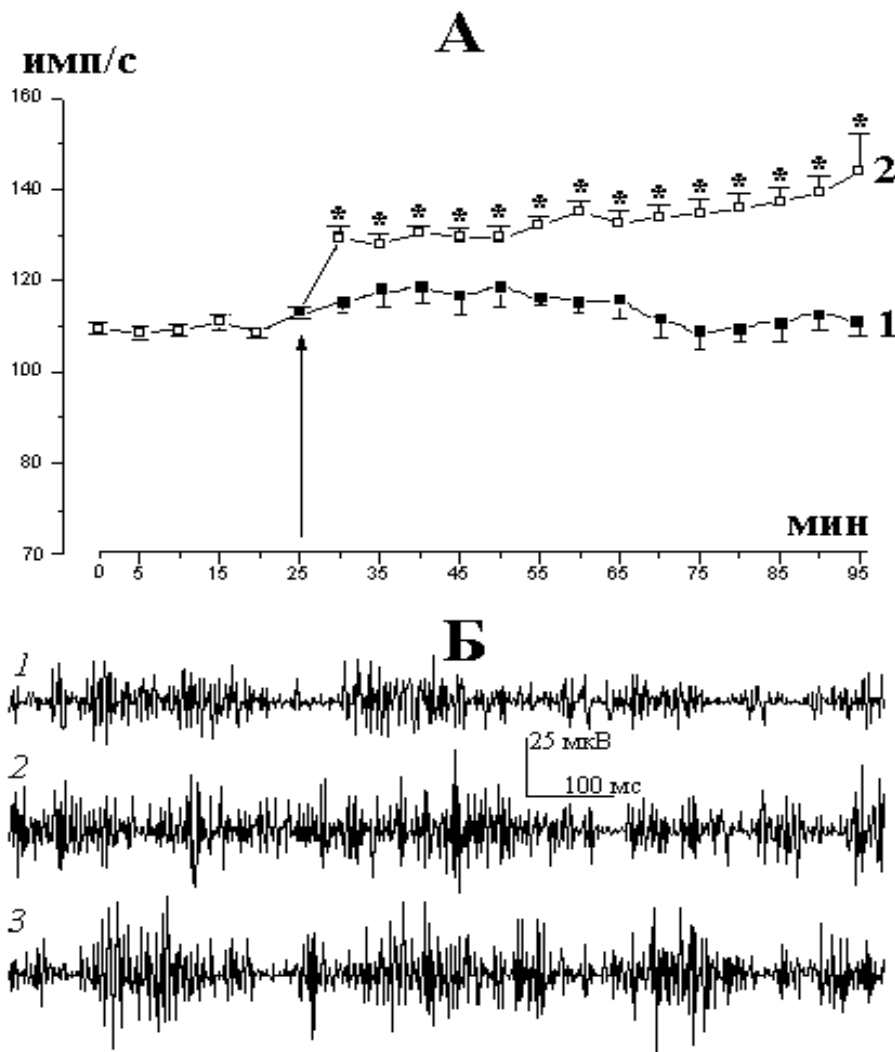


Рисунок 2 – Изменение частоты симпатической эфферентной активности в брыжеечных нервах тощей кишки (А) при введении в указанный отдел изотонического раствора NaCl (1) или раствора аденозина (2). Электронейрограммы эфферентной активности в нервах тощей кишки (Б). 1 – в фоне, 2 – через 25 мин после инфузии нуклеозида, 3 – через 50 мин

В центральном отрезке брыжеечного нерва при введении раствора 0,1 мг аденозина в 0,5 мл изотонического раствора NaCl в тощую кишку наблюдалось усиление электрической активности. Отличительной особенностью этих эффектов являлось то, что частота эфферентных разрядов постепенно возрастала в течение всего эксперимента (70 мин). Латентный период реакции составил 2–3 мин. Максимальный уровень повышения активности наблюдался на 70-й мин и был на $32,1 \pm 5,12\%$ выше уровня фона (рисунок 2, А2).

На рисунке 2 Б представлены нейрограммы натуральной электрической активности (СЭИ) в брыжеечных нервах тощей кишки (рисунок 2, Б). Частота симпатической эфферентной импульсации (СЭИ) в брыжеечных нервах тощей кишки на 35 мин после введения аденозина была выше уровня фона на 21% (рисунок 2, А2).

Выраженные изменения уровня тонической эфферентной импульсации в краниальных брыжеечных нервах являются следствием возбуждения афферентных окончаний тонкой кишки под влиянием аденозина. Их направленность находится в зависимости от раздражаемого рецептивного поля: введение препарата в тощую кишку сопровождается усилением, а в подвздошную, как было показано нами ранее, – угнетением активности симпатических эфферентных волокон [9, 10].

Симпатическая эфферентная импульсация селезеночного нерва при действии аденозина на рецепторы тонкой кишки.

Для эфферентных волокон селезеночного нерва характерна спонтанная активность, представленная высокочастотной импульсацией (более 100–150 имп/с), паттерн которой образован залпами (пачками) высокоамплитудных импульсов и нерегулярными отдельными межзалповыми потенциалами.

Контрольные эксперименты показали, что введение изотонического раствора NaCl в тощую кишку не изменяет частоту СЭИ в селезеночном нерве (рисунок 3, 1).

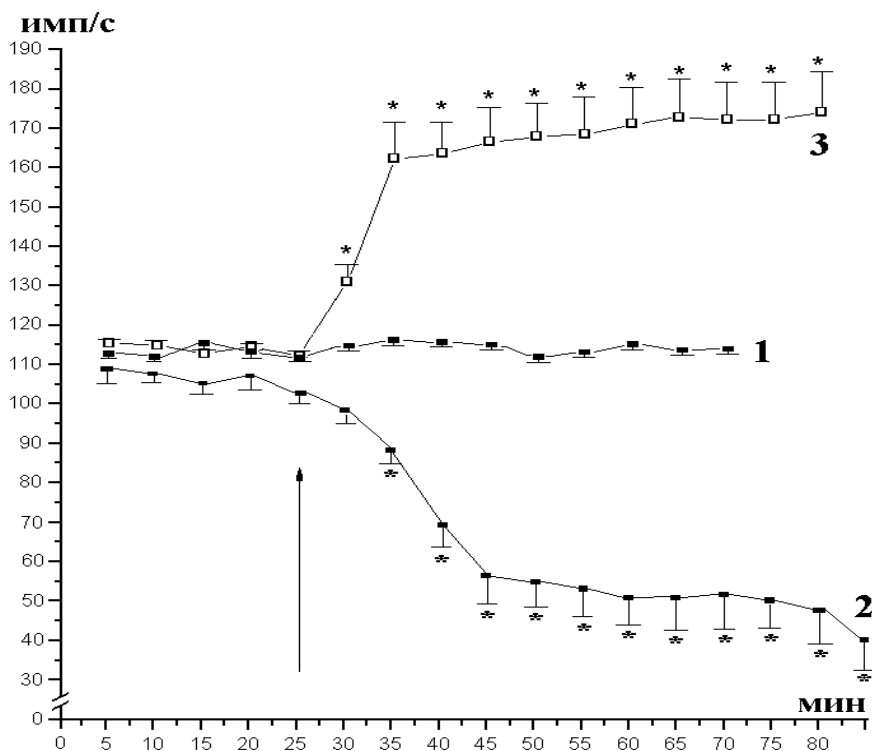


Рисунок 3 – Обобщённые графики изменения частоты симпатической эфферентной импульсации в селезеночном нерве в трёх сериях опытов: 1 – после введения в полость тощей кишки изотонического раствора NaCl (n = 9); 2 – раствора аденозина (n = 6) и 3 – аминофиллина (n = 6)

Внутриполостная же инфузия 1 мг экзогенного аденозина в этот же отдел кишечника приводит к достоверному угнетению СЭИ в эфферентных волокнах селезеночного нерва с латентным периодом 3–5 мин. Частота центробежных разрядов к концу часового наблюдения достигала минимального уровня и составила только $40,2 \pm 9,4\%$ от уровня фона. Изменение частоты было ниже уровня фона на 48,6% (рисунок 3, 2).

Блокада аминофиллином аденозиновых рецепторов, расположенных на мембране афферентных окончаний тонкой кишки, а также дефицит образования этого нуклеотида в кишечнике приводят к усилению импульсной активности афферентных волокон и сопровождаются симпатизирующим эффектом. Аналогичное усиление центростремительной импульсации было зарегистрировано в брыжеечных нервах подвздошной кишки при введении раствора аминофиллина в ее полость [9]. Введение аминофиллина в тощую кишку приводило к длительному усилению СЭИ в селезеночном нерве.

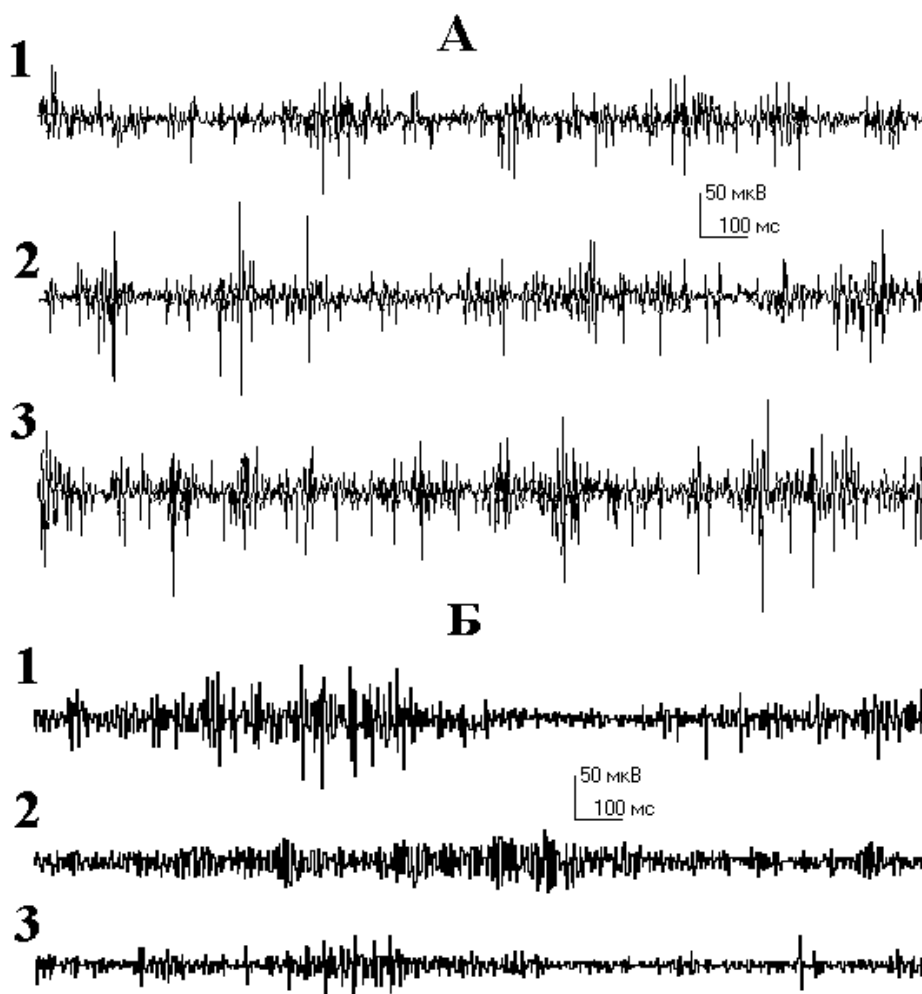


Рисунок 4 – Электронейрограммы эфферентной активности в волокнах селезеночного нерва: А) после введения в полость тощей кишки раствора аминофиллина – фон (1), через 5 (2) и 50 (3) мин после его инъекции; Б) после введения в полость тощей кишки аденозина – фон (1), через 25 (2) и 60 (3) мин после его применения

На 10-й мин после введения препарата частота разрядов достоверно возросла и составляла в среднем $46,1 \pm 8,8\%$ по сравнению с фоновой. К концу регистрации (через 60 мин от введения) частота эфферентных разрядов в среднем была выше на $52,6 \pm 8,8\%$, чем в контрольных экспериментах (рисунки 3, 3 и 3, 1). На рисунке 4 представлены нейрограммы натуральной электрической активности (СЭИ) в селезеночном нерве.

Заключение

Таким образом, приведенные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что уровень тонической активности симпатических эфферентных волокон тощей кишки и селезеночного нерва зависит от афферентной сигнализации, поступающей в нервные центры от рецепторов тонкого кишечника. Причем действие аденозина со стороны слизистой оболочки тощей кишки проявляется в симпатизирующих (для брыжеечных нервов тощей) и симпатизирующих рефлекторных реакциях (для селезеночного нерва). Это подтверждается тем, что усиление афферентной активности после инфузии аденозина в просвет тощей кишки приводит к длительному (55 мин) ингибированию симпатических ответов: падение частоты и амплитуды симпатической эфферентной импульсации в селезеночном нерве достигает 48,6%. Так как ряд авторов отмечают, что симпатические эфферентные волокна селезеночного нерва весьма существенно влияют на связанную с поддержанием иммунитета функцию селезенки [13, 14, 15], то результаты наших исследований указывают на существование неизвестного ранее механизма модулирующих влияний аденозина на иммунное состояние селезенки и, вероятно, других иммунокомпетентных органов, что несомненно представляет интерес для теоретической физиологии и медицины.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Солтанов, В.В. Механизмы саморегуляции вегетативных функций в норме и патологии / В.В. Солтанов. – Минск : Наука и техника, 1994. – 335 с.
2. Christofi, F.L. Differential gene expression of adenosine A1, A2a, A2b, and A3 receptors in the human enteric nervous system / F.L. Christofi [et al.] // *J. Comp. Neurol.* – 2001. – Vol. 439 (1). – P. 46–64.
3. Burnstock, G. Purinergic receptors: their role in nociception and primary afferent neurotransmission / G. Burnstock, J.N. Wood // *Curr. Opin. Neurobiol.* – 1996. – Vol. 6 (4). – P. 526–532.
4. Sanderson, I.R. Nucleotide uptake and metabolism by intestinal epithelial cells / I.R. Sanderson, Y. He // *J. Nutr.* – 1994. – Vol. 124 (1 Suppl). – P. 131S–137S.
5. Kirkup, A.J. Characterization of adenosine receptors evoking excitation of mesenteric afferents in the rat / A.J. Kirkup [et al.] // *Br. J. Pharmacol.* – 1998. – Vol. 125 (6). – P. 1352–1360.
6. Soltanov, V.V. Purinergic mechanisms of changes in the afferent activity following application of lipopolysaccharide *Escherichia coli* to the ileum and colon // V.V. Soltanov, A.G. Chumak, A.Y. Rudaya // *Medico-Biological Problems of Thermophysiology.* – Minsk : Biznesofset, 2002. – P. 152–155.
7. Чумак, А.Г. Монооксид азота как фактор повышения возбудимости кишечных рецепторов // А.Г. Чумак, А.Ю. Рудая // Роль нейромедиаторов и регуляторных пептидов в процессах жизнедеятельности : сб. ст. – Минск : Полибиг, 1999. – С. 266–268.
8. Солтанов, В.В. Компьютерные программы обработки электрофизиологических данных / В.В. Солтанов, В.Е. Бурко // *Новости медико-биологических наук (News of biomedical sciences).* – 2005. – № 1. – С. 90–95.

9. Морозова, И.Л. Особенности влияний аденозина на активность афферентных и эфферентных волокон различных отделов кишечника / И.Л. Морозова, М.В. Головач, В.В. Солтанов // Проблемы интеграции функций в физиологии и медицине. – Минск : Бизнесофсет, 2004. – С. 261–263.

10. Головач, М.В. Активация эфферентных волокон брыжеечных нервов при введении в подвздошную кишку аденозина / М.В. Головач // Весн. Брэсц. уні-та, Сер. прыродазн. навук. – 2004. – № 3. – С. 61–65.

11. Kirkup, A.J. Receptors and transmission in the brain-gut axis: potential for novel therapies. I. Receptors on visceral afferents / A.J. Kirkup, A.M. Brunson, D. Grundy // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 2001. – Vol. 280 (5). – P. 787–794.

12. Stow, R.A. Purine nucleoside transport and metabolism in isolated rat jejunum / R.A. Stow, J.R. Bronk // J. Physiol. – 1993. – Vol. 468. – P. 311–324.

13. Tyagi, M.G. Central nervous regulation of spleen function: new insights from animal studies / M.G. Tyagi, V. Divya // Int. J. of App. Biol. and Pharm. Tech. – 2012. – Vol. 3. – P. 162–168.

14. Nijjima, A. The effects of interleukin-1 β on the activity of adrenal, splenic and renal sympathetic nerves in the rat / A. Nijjima [et al.] // J. of the Autonomic Nervous System. – 1991. – Vol. 36. – P. 183–192.

15. Katafuchi, T. Central administration of interferon- α enhances rat sympathetic nerve activity to the spleen / T. Katafuchi, T. Hori, S. Take // Neurosci. – 1991. – Vol. 125. – P. 37–40.

M.V. Halavach. Reaction Visceral Nerves of Rats to Infusion into the Lumen of Jejunum Adenosine and Aminophylline

Results of investigation show that the level of tonic activity of sympathetic efferent fibers in the jejunum and the splenic nerve depends on the afferent signals coming to the nerve centers of the receptors of the small intestine, are brought forward. The action of adenosine by the jejunal mucosa appears to activate the sympathetic (as for mesenteric nerves of the jejunum) and the sympathetic inhibitory reflex reactions (as for the splenic nerve). The results of the studies indicate the existence of a previously unknown mechanism for modulating reflex influences on the immune status of the spleen and possibly other immunocompetent organs.

Рукапіс паступіў у рэдкалегію 13.11.2012