

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАУКИ И ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ ИМ. И.П.ПАВЛОВА
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

Научный доклад об основных результатах подготовленной научно-
квалификационной работы

**«Механизмы участия серотонинергической системы головного мозга в
контроле висцеральной ноцицепции в норме и
при кишечной патологии»**

Сушкевич Борис Михайлович

06.06.01 Биологические науки

1.5.5 Физиология человека и животных

Научный руководитель:
д.б.н. Любашина Ольга Анатольевна

Санкт-Петербург
2025

Актуальность исследования

Боль в органах брюшной полости, или абдоминальная, является одним из самых распространенных видов боли, представляющим серьезную медицинскую, социальную и экономическую проблему во всех странах мира, включая Российскую Федерацию (Баряева, 2014; Абрамова, Перцев, 2017; Абдоминальный болевой синдром, 2020). При этом наиболее трудной для современных диагностики и терапии является хроническая абдоминальная боль, беспокоящая пациентов без клинически выраженной органической причины. Её патогенез до сих пор остается неясным и лечение малоэффективно (Баряева, 2014; Загидуллин и др., 2016; Glasgow, Mulvihill, 2003). Поэтому понимание механизмов развития хронической абдоминальной боли является актуальным направлением современных научных исследований, необходимым для разработки эффективных методов её терапии.

В большинстве случаев хроническая абдоминальная боль является симптомом заболеваний органов желудочно-кишечного тракта (Гаус, Лизван, 2020, Tao et al., 2019, Gros et al., 2021, Takahashi et al., 2021, Chen, Heinricher, 2022;). Большинство специалистов связывают её возникновение с развитием кишечной гиперчувствительности, т.е. повышенной чувствительности кишечной стенки к разного рода физиологическим раздражителям, вследствие которой даже нормальное прохождение пищи по пищеварительному тракту становится болезненным (Ардатская, Топчий, 2017). Имеющиеся клинические и экспериментальные данные дают основание полагать, что важную роль в развитии такого состояния играют вызванные кишечной патологией нарушения в супраспинальных механизмах контроля болевой информации от кишки, которые могут сохраняться длительное время после разрешения органической первопричины, усиливаясь при стрессе или эмоциональных расстройствах (Cortes-Altamirano et al., 2018; Bardoni et al., 2019). Между тем, супраспинальные механизмы висцеральной боли и изменения в них, способствующие

кишечной гиперчувствительности, являются наименее исследованными.

В настоящее время одним из важных компонентов патогенеза хронической боли, в том числе абдоминальной, общепризнанно считается нарушение функционирования серотонинергической системы головного мозга, занимающей одно из центральных мест в супраспинальном контроле болевой чувствительности (Гаус, Ливзан, 2020; Любашина и др., 2022; Gheorghe et al., 2019; Gros et al., 2021). Однако конкретные изменения в работе серотонинергических структур, которые могут быть инициированы органической патологией и сохраняться после ее разрешения, способствуя стойкой кишечной гиперчувствительности, не определены.

Ключевыми серотонин-синтезирующими центрами контроля болевой чувствительности являются большое (БЯШ) и дорсальное (ДЯШ) ядра шва, которые благодаря широкому распространению нисходящих и восходящих проекций, могут оказывать влияния на разные уровни обработки и проведения болевых сигналов — от спинального до кортикального, модулируя разные компоненты системной реакции организма на боль (Charnay, Léger, 2010; Martins, Tavares, 2017; Heijmans et al., 2021; Chen, Heinricher, 2022; Zhang et al., 2024). Установлено, что эти ядра химически гетерогенны и содержат помимо серотонинергических нейронов значительное количество несеротониновых клеток, регулирующих различным образом возбудимость первых и высвобождение ими серотонина внутри ядра или в других областях мозга (Wang, Nakai 1994; Inyushkin et al. 2010; Martins, Tavares 2017; Hernández-Vázquez et al. 2019; Zhang et al. 2024).

Показано, что важнейшим молекулярным компонентом ядер шва, играющим ключевую роль в регуляции их функциональной активности, являются серотониновые рецепторы 1А подтипа (5-HT_{1A} рецепторы). Это метаботропные рецепторы, которые могут выступать в роли как ауто-, так и гетерорецепторов, опосредуя тормозное действие серотонина на серотонин-синтезирующие и несеротониновые клетки, соответственно (Fink, Gothert, 2007; Garcia-Garcia et al., 2014; Courtney, Ford, 2016).

Большинство известных на данный момент сведений о механизмах участия БЯШ и ДЯШ в контроле ноцицепции в норме и при патологии относятся к соматическим болевым синдромам (Chen, Heinricher 2022; Zhang et al. 2024). Особенности же их функционирования при висцеральной боли недостаточно изучены. Между тем, имеющиеся данные о способности нейронов ядер шва селективным образом реагировать на соматические и висцеральные болевые стимулы (Brink, Mason, 2003; Brink et al., 2006; Sanoja et al., 2010) указывают на возможные различия в механизмах контроля ими разных видов ноцицепции, которые пока не ясны и нуждаются в специальном исследовании, в том числе в отношении специфики вовлечения в них серотонин-синтезирующих и несеротониновых клеток ядер шва, а также вклада 5-HT_{1A} рецепторов.

В свою очередь, функциональные, нейрохимические и молекулярные изменения, которые были выявлены в БЯШ и ДЯШ при разного рода висцеральных патологиях (Reichman et al., 2015; Zhang et al., 2016; Wan et al., 2017; Do, Woo, 2018), гипотетически могут приводить к долговременным перестройкам в нейрональных механизмах обработки и нисходящей модуляции болевых сигналов, способствуя стойкому нарушению не только висцеральной, но и соматической болевых чувствительностей. Однако экспериментальные факты, которые могли бы подтвердить или опровергнуть это предположение, в доступной научной литературе отсутствуют.

Цель исследования

Изучение нейрональных механизмов, обеспечивающих обработку и нисходящую модуляцию висцеральных болевых сигналов серотонинергическими структурами мозга, и выяснение изменений в реализации этих механизмов, вызываемых воспалением толстой кишки.

Задачи исследования

1. Изучить импульсные реакции нейронов большого и дорсального

ядер шва на болевое растяжение толстой кишки в сравнении с ответами на соматическую болевую стимуляцию (сдавливание хвоста) и охарактеризовать изменения в них, вызванные экспериментальным колитом.

2. Оценить эффекты системной активации серотониновых 5-HT_{1A} рецепторов на нейрональные реакции ядер шва, вызываемые колоректальным растяжением и сдавливанием хвоста, в норме и после развития кишечного воспаления.

3. Определить индуцируемые колитом изменения в ноцицептивной активации серотонин-синтезирующих клеток большого и дорсального ядер шва и уровне экспрессии в этих структурах 5-HT_{1A} рецепторов.

4. Изучить эффекты электростимуляции большого ядра шва на активность нейронов продолговатого мозга, вызываемую болевым кишечным растяжением в сравнении со сдавливанием хвоста, и выяснить особенности реализации этих эффектов при кишечной патологии.

Научная новизна работы

Впервые определены нейрональные механизмы, обеспечивающие участие ключевых серотонинергических структур мозга в контроле висцеральной ноцицепции по сравнению с соматической, оценен вклад в них 5-HT_{1A} рецепторов и выявлены постколитные изменения в этих процессах, которые могут способствовать развитию висцеральной и ассоциированной с ней соматической гипералгезий.

В БЯШ и ДЯШ, помимо общих для висцеральной и соматической ноцицепций нейронов, описаны избирательно реагирующие на висцеральное или соматическое болевые воздействия нервные клетки. Продemonстрировано, что кишечное воспаление вызывает разнонаправленные изменения в ноцицептивных свойствах изученных структур, выражающиеся в усилении тормозных реакций нейронов БЯШ на разные болевые сигналы при возрастании неселективного возбуждения нейронов ДЯШ в ответ на висцеральное и соматическое болевые воздействия.

Показано, что реактивность нейронов БЯШ и ДЯШ как к висцеральным, так и к соматическим болевым сигналам, находится под тормозным контролем со стороны 5-HT_{1A} ауторецепторов, тогда как фармакологическая активация 5-HT_{1A} гетерорецепторов усиливает ноцицептивную активность нервных клеток в БЯШ, но подавляет её в ДЯШ. Впервые обнаружены вызываемые кишечным воспалением трансформация стимулирующей функции 5-HT_{1A} гетерорецепторов в БЯШ в тормозную и ослабление тормозных эффектов стимуляции этих рецепторов в ДЯШ.

Продemonстрировано, что как в БЯШ, так и в ДЯШ преобладающими среди реактивных к висцеральной боли нейронов являются несеротониновые клетки, тогда как серотонин-синтезирующие нейроны избирательно активируются только при соматической ноцицепции. Установлено, что кишечного воспаления вызывает снижение общего уровня реактивности БЯШ к висцеральным и соматическим болевым сигналам, развивающееся на фоне дефицита серотонинергической ноцицептивной трансмиссии и уменьшения локальной экспрессии 5-HT_{1A} рецепторов, тогда как ДЯШ сохраняет уровень ноцицептивной активации своих серотониновых нейронов при сокращении участия в этом процессе несеротониновых клеток на фоне усиления локальной продукции рецепторов 5-HT_{1A}.

Установлены дифференцированные влияния БЯШ на избирательные и неселективные реакции возбуждения и торможения нейронов продолговатого мозга в ответ на висцеральные и соматические болевые раздражения, проявляющиеся в подавлении возбуждающих и усилении тормозных нейрональных реакций. Продemonстрировано ослабление эффектов БШЯ на ноцицептивное торможение бульбарных ноцицептивных нейронов после перенесенного кишечного воспаления.

Материалы и методы

Эксперименты выполнены на взрослых самцах крыс стока линии Вистар (масса тела от 265 до 360 г), взятых из ЦКП «Биоколлекция ИФ РАН

для исследования интегративных механизмов деятельности нервной и висцеральной систем». Все экспериментальные процедуры соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, и рекомендациям Комиссии по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных при ИФ РАН.

Во всех исследованиях были задействовано 142 особи из группы здорового контроля и 134 животных, у которых был инициирован экспериментальный колит путем внутрикишечного введения спиртового раствора прикрилсульфониевой кислоты (TNBS, Sigma-Aldrich, США; 20 мг в 0,25 мл 50 % раствора этанола) по общепризнанному методу (Morris et al., 1989). Перед выполнением всех экспериментов животных обеих групп после 16-часовой пищевой депривации со свободным допуском к воде анестезировали внутрибрюшинным введением смеси уретана (800 мг/кг; Sigma-Aldrich, США) и альфа-хоралозы (60 мг/кг; ICN Biomedicals, США).

В качестве висцерального болевого раздражения использовали колоректальное растяжение (КРР) при помощи резинового баллона, раздуваемого шприцевым насосом ДШ-09 (Висма-Пленар, Беларусь) до достижения уровня внутрикишечного давления в 80 мм рт. ст. Соматическая болевая стимуляция представляла собой механическое сдавливание основания хвоста (МСХ) пинцетом алгезиметра (BIO-RP-R, Bioseb SAS, Франция) с нагрузкой от 650 до 900 г. Длительность болевых стимулов в разных экспериментах составляла 30 или 60 с.

1. Нейрофизиологические эксперименты

У 38 анестезированных крыс (20 здоровых и 18 животных, взятых в эксперимент на 29 – 45 сутки после инициации колита) после фиксации головы в стереотаксическом приборе и хирургического обеспечения доступа к исследуемым структурам по координатам стандартного атласа мозга крысы (Paxinos, Watson, 1998) осуществляли внеклеточную регистрацию фоновой импульсной активности нейронов БЯШ и ДЯШ и их реакций на 30-секундные КРР или МСХ с использованием вольфрамовых микроэлектродов в лаковой

изоляции (1 мкм, 1 МОм; WPI, США), перемещаемых при помощи микропогружателя (МП-2, Россия). После усиления (DAM 80, WPI, США) регистрируемые сигналы визуализировали и сохраняли в программе Audition 3 (Adobe Corp, США).

На других 26 крысах из группы здорового контроля и 24 постколитных животных (30 – 45 день после инициации колита) внеклеточно с помощью перемещаемых микроманипулятором (MD842, Siskiyou Corporation, США) вольфрамовых микроэлектродов (1 мкм, 1 МОм; WPI, США), усилителя (DAM 80, WPI, США) и программы Spike 2 (CED, Великобритания) регистрировали импульсные реакции нейронов каудальной вентролатеральной ретикулярной области продолговатого мозга (кВЛРО) на 60-секундные КРР или МСХ в отсутствие и после предварительной 3-секундной электростимуляции БЯШ. Последнюю осуществляли прямоугольными импульсами тока (0,5-2,0 В, 0,2 мс, 50 Гц) через монополярный вольфрамовый электрод (2 мкм, 50-80 кОм) при помощи стимулятора Isostim A320 (WPI, США).

2. Фармакологические исследования

В условиях экспериментов, описанных в *п. 1*, крысы из группы здорового контроля ($n = 78$) и постколитной группы ($n = 74$) были случайным образом разделены на пять подгрупп (по 7-9 животных в каждой): 1) с системным (внутривенным) введением физиологического раствора; 2) с внутривенной инъекцией агониста 5-HT_{1A} рецепторов буспилона (Sigma-Aldrich, США) в дозе 0,1 мг/кг; 3) в дозе 0,5 мг/кг; 4) в дозе 2 мг/кг; 5) в дозе 4 мг/кг. Во всех группах внеклеточно с помощью вольфрамовых микроэлектродов (1 мкм, 1 МОм; WPI, США), перемещаемых микроманипулятором (MD842, Siskiyou Corporation, США), усилителя (DAM 80, WPI, США) и программы Spike 2 (CED, Великобритания) регистрировали импульсные реакции нейронов БЯШ или ДЯШ на 30-секундные КРР или МСХ до и через 5, 15, 30, 45, 60, 75 и 90 мин после внутривенной инъекции физраствора или буспилона.

3. Иммуногистохимические исследования

Две группы анестезированных животных из здорового контроля ($n = 9$) и крысы на 6 – 8 день после инициации колита ($n = 9$) без операционного вмешательства были случайным образом разделены на три равные (по 3 особей) подгруппы: 1) стимуляционный контроль (без болевых воздействий); 2) с висцеральной болевой стимуляцией (КРР) и 3) с соматическим болевым раздражением (МСХ). Другие две равные группы контрольных крыс ($n = 9$) и животных на 32 – 36 день после инициации колита ($n = 9$) были разделены на две подгруппы: 1) стимуляционный контроль ($n = 5$) и 2) с КРР ($n = 4$). Оба вида болевого раздражения осуществляли в течение 60 с каждые пять минут в течение часа. Животные из стимуляционного контроля такое же количество времени находились в покое. По окончании описанных выше процедур производили транскардиальную перфузию с последующим извлечением головного мозга, который подвергали криопротекции перед изготовлением серийных (один-из-пяти) фронтальных срезов (40 мкм) через области БЯШ и ДЯШ на замораживающем микротоме (Reichert, Германия; замораживающий столик ОЛ-ЗСО 30, Россия).

Срезы первой серии использовали для гистологического контроля границ исследуемых структур (окраска крезиловым фиолетовым по методу Ниссля). Вторая серия срезов была подвергнута иммуногистохимической обработке для визуализации клеток с c-Fos-позитивными ядрами по авидин-биотин-пероксидазному методу с применением первичных поликлональных антител к белку c-Fos (ABE457; Sigma-Aldrich, США; host: rabbit; 1:10000), вторичных биотинилированных антител (goat anti-rabbit IgG; PK-4001 kit, Vector Laboratories, США; 1:600) и хромогенсодержащего раствора диаминобензидина с Ni и H₂O₂. Срезы третьей серии были подвергнуты двойному флуоресцентному иммуногистохимическому процессингу для выявления целевых нейронов с c-Fos-позитивными ядрами, в том числе синтезирующих серотонин, с использованием антител anti-c-Fos (ABE457; Sigma-Aldrich, США; host: rabbit; 1:4000); anti-Serotonin (ab66047; Abcam,

Великобритания; host: goat; 1:1000), Alexa Fluor 568 Donkey anti-Rabbit IgG (A10042; Invitrogen, США; 1:500), Alexa Fluor 488 Donkey Anti-Goat IgG (A-11055; Invitrogen, США; 1:500). Высушенные стекла со срезами заключали в защитную среду ab104135 (Abcam, Великобритания).

Изображения окрашенных хромогенами препаратов получали в светлом поле микроскопа Olympus CX41 (Япония) с помощью цифровой видеокамеры Nikon (Япония), флуоресцентных – с помощью системы визуализации клеток EVOS M5000 Imaging System (Invitrogen, США). Количества иммунопозитивных нейронов определяли с помощью программного пакета «ImageJ Fiji» (NIH, США).

4. Вестерн-блот

Равные группы (по 6 особей) крыс из здорового контроля и животных, взятых на 30-й день после инициации колита, были декапитированы с немедленным переносом головы на лед и изъятием мозга для забора образцов ткани БЯШ и ДЯШ с дальнейшей гомогенизацией последних в протеиназосодержащем лизисном буфере. Общую концентрацию белка определяли по методу Бредфорда. Экстракты разделяли электрофорезом в 14%-ом полиакриламидном геле по Лэмли. Выделенные белки, перенесенные на нитроцеллюлозные мембраны, последовательно инкубировали в растворах, содержащих первичные поликлональные антитела к 5-HT_{1A} рецепторам (AF5453; host: rabbit; Affinity, Китай; 1:600) и вторичные поликлональные антитела Goat Anti-Rabbit IgG (s0001; Affinity, Китай; 1:4000), конъюгированные с пероксидазой хрена. Визуализацию и количественный анализ связавшихся антител проводили с использованием хемолуминесцентного метода (система ECL; Amersham, США). Рентгеновские пленки сканировали. Количественный анализ осуществляли при помощи компьютерной программы Gel-Pro Analyzer (MCI, США). Для каждого электрофореза рассчитывали отношения связывания антител к белку 5-HT_{1A} рецепторов к β -актину.

5. Гистологические исследования

После завершения нейрофизиологических и фармакологических экспериментов (*пункты 1, 2*) животное подвергали эвтаназии внутривенным введением трехкратной дозы анестетика и затем выполняли электролитическое разрушение ткани мозга через регистрирующий и стимулирующий электроды (постоянный ток отрицательной полярности, 0,5-1,2 мА, 40 с) с последующим извлечением мозга, изготовлением срезов толщиной 40 мкм через области исследуемых структур и их стандартной гистологической обработкой (метод Ниссля) для локализации мест регистрации и стимуляции. Также во всех исследованиях у крыс из группы здорового контроля и животных, подвергнутых колиту, был осуществлен забор фрагмента толстой кишки длиной 8 см от ануса для визуального анализа, изготовления поперечных срезов толщиной 40 мкм и их последующего окрашивания эозином и гематоксилином для оценки текущего состояния кишечной стенки.

6. Статистическая обработка

Статистическую обработку, сравнение и графическое оформление данных осуществляли в среде программных пакетов «Origin 8» (OriginLab, США), IBM SPSS Statistics v. 21.0 (IBM Corp., США) и «GraphPad InStat 3.02» (GraphPad Software, США). В связи с отклонением полученных данных от нормального распределения (тест Шапиро-Вилка), при их анализе применяли непараметрические методы. Для внутригрупповых сравнений применяли тест Фридмана и парный тест Вилкоксона, для сравнений между группами использовали тесты Крускала-Уоллиса и Манна-Уитни-Вилкоксона. В случае множественного сравнения применяли поправку Бонферрони. Для сравнения количественного представительства нейронов в исследуемых ядрах шва использовали χ^2 -критерий и точный тест Фишера. Данные в зависимости от их вида были представлены как абсолютное значение, среднее \pm стандартная ошибка среднего или как медиана (25-й перцентиль; 75-й перцентиль). Во всех случаях различия считали статистически

значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Реакции нейронов большого и дорсального ядер шва на висцеральную и соматическую болевые стимуляции и их характеристики в постколитный период

В этих исследованиях постколитный период соответствовал 29 – 45 дням после инициации колита, когда как минимум в течение 10 – 14 дней крысы не демонстрировали внешние признаки острого кишечного воспаления (сниженный аппетит, диарея и потеря веса) и при микроскопическом исследовании не были обнаружены повреждения в их колоректуме (рис. 1А, Б).

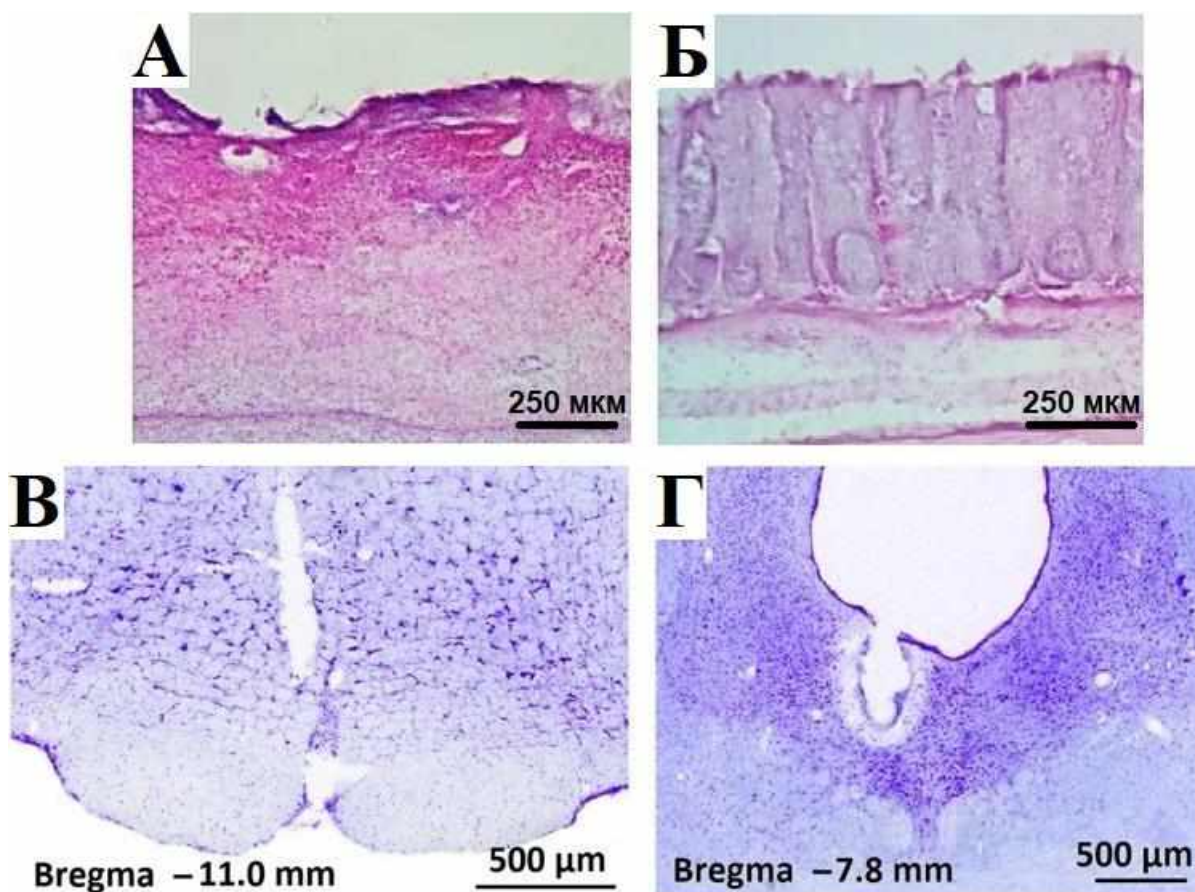


Рис. 1. Микрофотографии гистологических препаратов каудальной ободочной кишки (А, Б) и ствола мозга (В, Г) крыс, демонстрирующие состояние острого колита (А), отсутствие признаков кишечного воспаления на 38-й день после внутрикишечного введения пикрилсульфониевой кислоты (Б) и места локализации кончика регистрирующего электрода в большом (Б) и дорсальном (В) ядрах шва.

Как показали проведенные в лаборатории эксперименты на

бодрствующих животных, в этот период, несмотря на гистологические признаки разрешения колита, крысы демонстрируют повышенную болевую чувствительность толстой кишки (Lyubashina et al., 2023).

По результатам гистологического анализа ствола мозга (рис. 1В, Г) большинство реагирующих на КРР и/или МСХ нейронов у здоровых и постколитных крыс было локализовано в левой части БЯШ (рис. 2А, В) и в левой вентролатеральной и вентральной частях ДЯШ (рис. 2Б, Г).

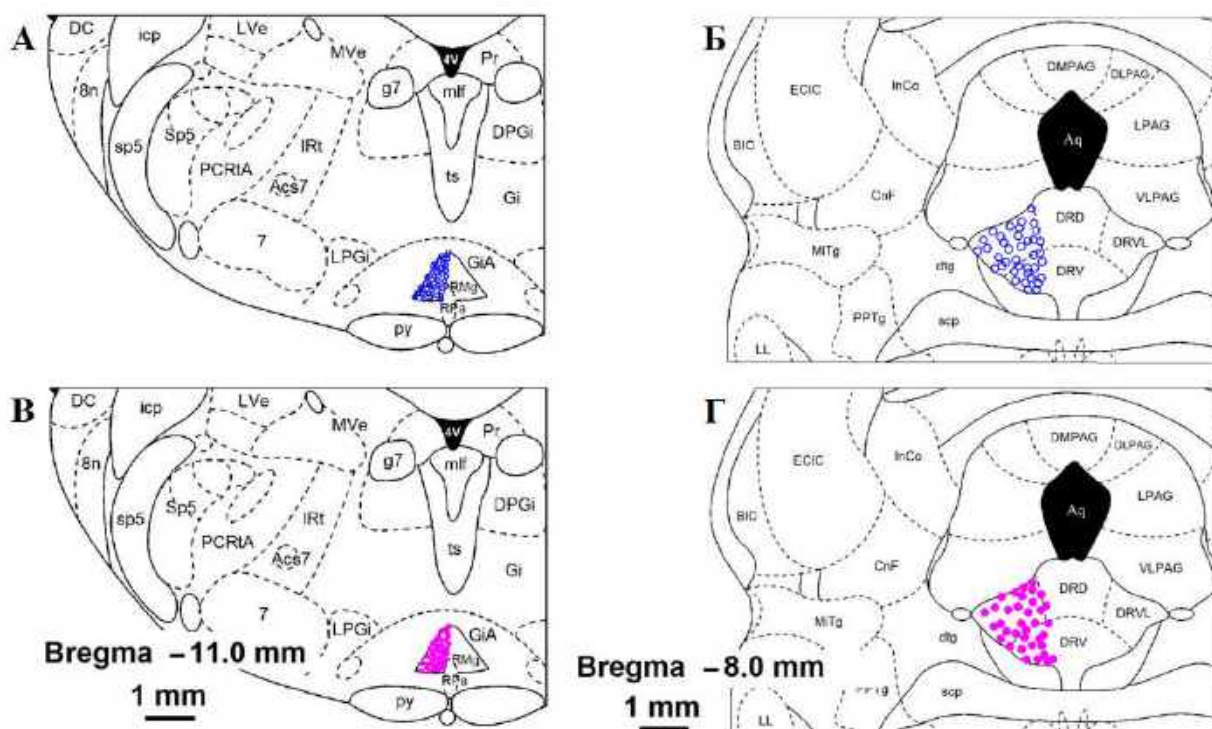


Рис. 2. Локализация мест регистрации нейронов в БЯШ (А, В) и ДЯШ (Б, Г) у здоровых (А, Б) и перенесших колит (В, Г) крыс. Каждый символ соответствует локализации нескольких зарегистрированных нейронов. Схемы срезов адаптированы из стандартного атласа мозга крысы (Paxinos, Watson, 1998).

Было установлено, что оба ядра шва содержат нейроны, которые могут селективно или избирательно возбуждаться при поступлении к ним висцеральных или соматических болевых сигналов, либо тормозить импульсную активность при любом из болевых воздействий. На основании особенностей реакции мы разделили их на следующие функциональные группы (рис. 3): висцеральные ноцицептивные, соматические ноцицептивные, общие ноцицептивные и тормозящие соответственно. Эти нейрональные популяции не демонстрировали каких-либо различий в

локализации в пределах изученных ядер шва.

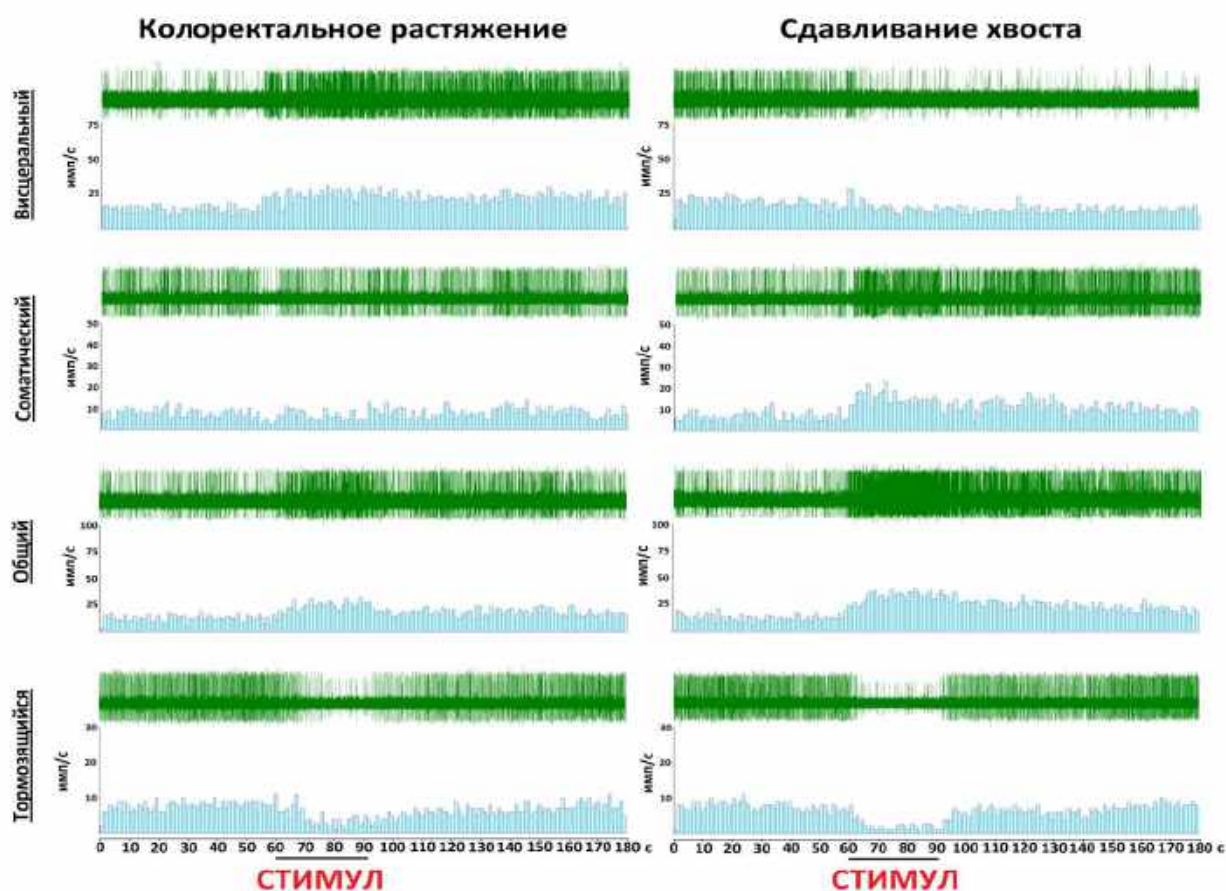


Рис. 3. Примеры импульсных реакций нейронов большого (тормозящийся) и дорсального (висцеральный, соматический, общий) ядер шва на висцеральный (КРР) и соматический (МСХ) болевые стимулы. Верхняя часть демонстрирует нативную запись нейрональной активности, нижняя – соответствующие частотные гистограммы. По оси абсцисс – время в секундах, по оси ординат – частота разрядов (имп/с). Бин гистограммы – 1 с. Горизонтальные отрезки – время действия болевого раздражения.

Изученные ядра отличались по содержанию разных типов ноцицептивных нейронов. Так БЯШ содержало меньшую, чем ДЯШ, долю тормозящихся нейронов и больше возбуждающихся ($p < 0,001$, точный тест Фишера). Однако в ДЯШ среди последних был отмечен больший, чем в БЯШ, процент висцеральных ноцицептивных клеток (рис. 4А). И хотя в обоих ядрах нейроны разных групп отвечали на висцеральный стимул с меньшей интенсивностью, чем на соматический, в ДЯШ возбуждающие и тормозные нейрональные реакции на КРР были более выражены, чем в БЯШ (рис. 4Б, В), свидетельствуя о большей реактивности к висцеральной ноцицепции серотонинергической структуры, которая вовлечена в формирование

эмоционально-аффективных реакций на боль (Wang, Nakai, 1994; Zhang et al., 2024), чем той, которая обеспечивает эндогенную аналгезию (Martins, Tavares, 2017).

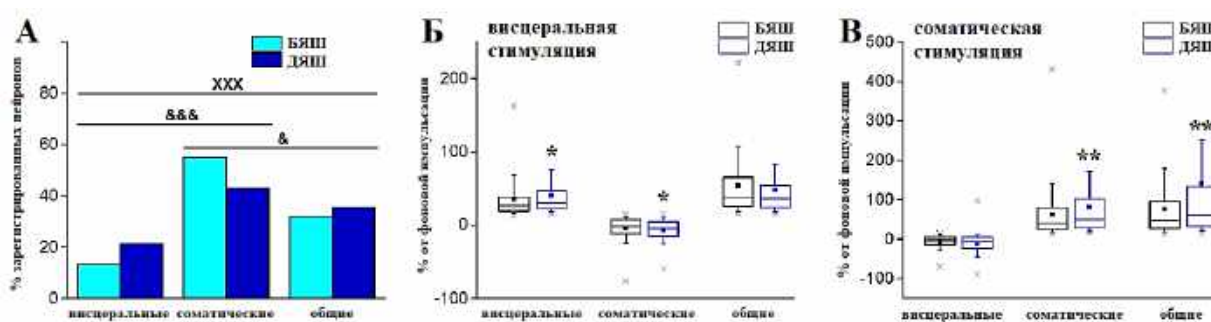


Рис. 4. Процентное соотношение висцеральных, соматических и общих ноцицептивных нейронов в БЯШ и ДЯШ (А) и интенсивности их ответов на висцеральное (Б) и соматическое (В) болевые раздражения. На (Б и В), верхняя и нижняя границы каждого прямоугольника – первый и третий квартили (25-й и 75-й процентиля соответственно), горизонтальная линия внутри – медиана (50-й процентиль), точка – среднее арифметическое, концы отрезков – 10-й и 90-й процентиля, кресты – минимальное и максимальное значения. Значимые различия между большим и дорсальным ядрами по количеству нейронов: $^{xxx} p < 0,001$ (критерий χ^2); $^{\&} p < 0,05$, $^{\&\&\&} p < 0,001$ (точный тест Фишера) и по отношению интенсивности ответов к соответствующему уровню в большом ядре шва $^* p < 0,05$, $^{**} p < 0,01$ (тест Манна-Уитни-Вилкоксона).

Впервые показано, что для постколитного периода в БЯШ характерно увеличение доли тормозящихся ноцицептивных нейронов (рис. 5А) и усиление тормозных реакций разных клеток на поступление не только висцеральных, но и соматических болевых сигналов (рис. 5В, Г). Это свидетельствует о нарастании в ядре ноцицептивного нейронального торможения, которое может быть причиной ослабления инициируемых этой структурой процессов эндогенной аналгезии и усиления не только кишечной, но и соматической болевых чувствительностей, характерного для поствоспалительного периода (Chen, Heinricher, 2022).

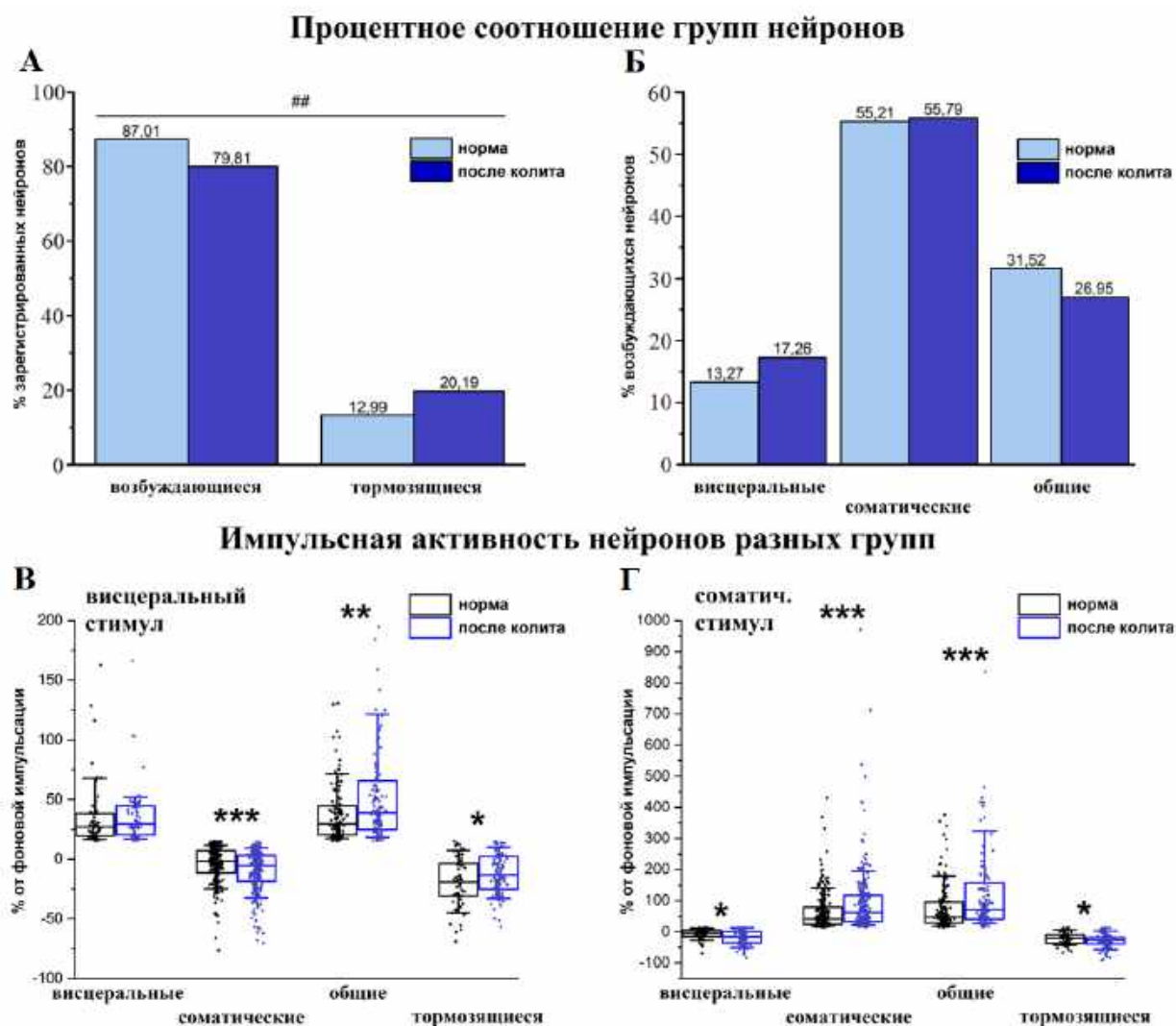
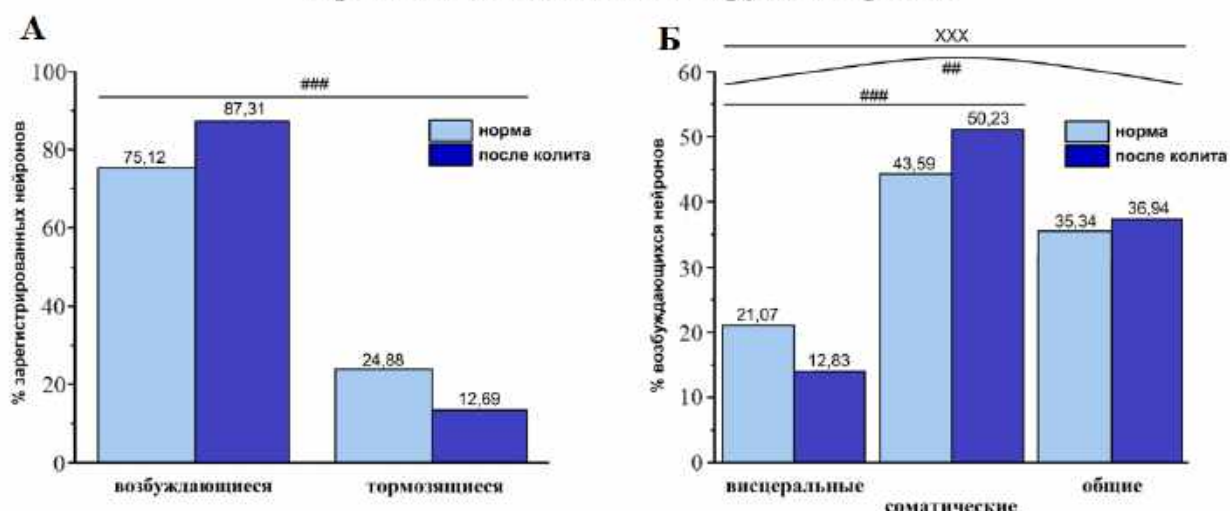


Рис. 5. Представительство в БЯШ возбуждающихся и тормозных (А), разных типов возбуждающихся (Б) ноцицептивных нейронов и интенсивность их импульсных реакций на висцеральное (В) и соматическое (Г) болевые раздражения в норме и после перенесенного колита. На (А и Б) - абсолютные значения. На (В и Г), верхняя и нижняя границы каждого прямоугольника – первый и третий квартили (25-й и 75-й процентиля соответственно), горизонтальная линия внутри – медиана (50-й процентиль), концы отрезков – 10-й и 90-й процентиля, точки – индивидуальные значения в выборке. Значимые различия между группами здорового контроля (норма) и перенесших колит (после колита): ## – $p < 0,01$, точный тест Фишера, и по отношению к соответствующему уровню в норме: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, тест Манна-Уитни-Вилкоксона.

Напротив, в ДЯШ после перенесенного кишечного воспаления возрастает доля возбуждающихся ноцицептивных нейронов (рис. 6А) со снижением среди них доли селективных висцеральных и увеличением числа соматических (рис. 6Б). При этом усиливаются дифференцированные реакции последних на соматическое раздражение, а также неселективные реакции на оба вида болевых стимулов (рис. 6В, Г).

Процентное соотношение групп нейронов



Импульсная активность нейронов разных групп

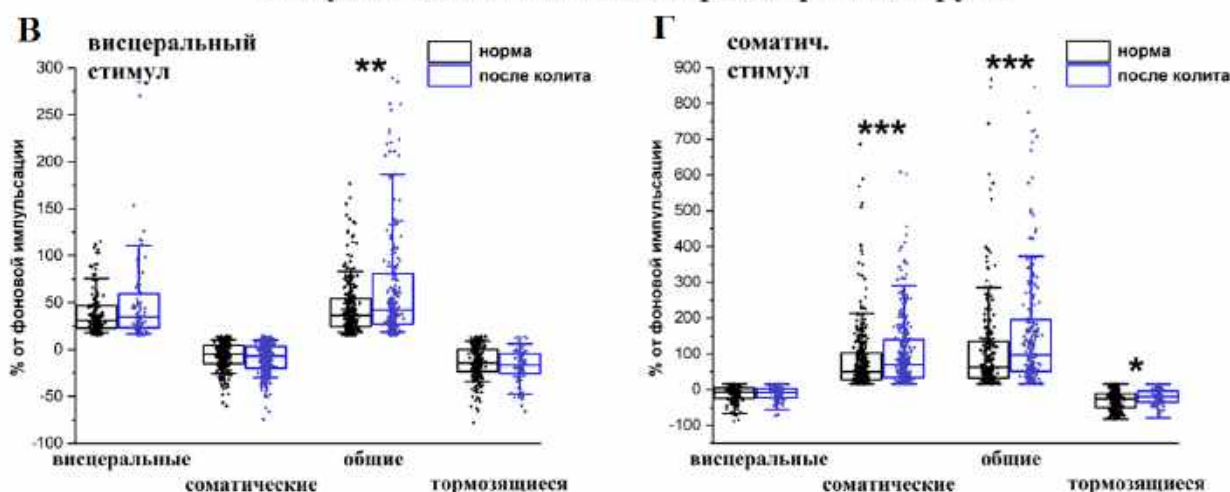


Рис. 6. Представительство в ДЯШ возбуждающихся и тормозных (А), разных типов возбуждающихся (Б) ноцицептивных нейронов и интенсивность их импульсных реакций на висцеральное (В) и соматическое (Г) болевые раздражения в норме и после перенесенного колита. Значимые различия между группами здорового контроля (норма) и перенесших колит (после колита): ## $p < 0,01$, ### $p < 0,001$, точный тест Фишера, XXX $p < 0,001$, критерий χ^2 , и по отношению к соответствующему уровню в норме: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, тест Манна-Уитни-Вилкоксона. Остальные обозначения как на рис. 4.

Это указывает на повышение уровня неизбирательной ноцицептивной активности ДЯШ, которая может приводить к возросшему и неадекватному ситуации на периферии вкладу этого ядра в негативные эмоциональные и когнитивные реакции, усиление которых наблюдается у пациентов с поствоспалительной хронической абдоминальной болью (Takahashi et al., 2021).

Ноцицептивная активность нейронов большого и дорсального ядер шва в условиях системной фармакологической активации 5-HT1A рецепторов в норме и после разрешения колита

Целевыми в этих исследованиях были нейроны исследуемых ядер шва, способные возбуждаться или затормаживаться при обоих видах болевых воздействий. Как и в предыдущих экспериментах, такие нейроны были преимущественно зарегистрированы в левой части БЯШ, в вентролатеральной и вентральной частях ДЯШ.

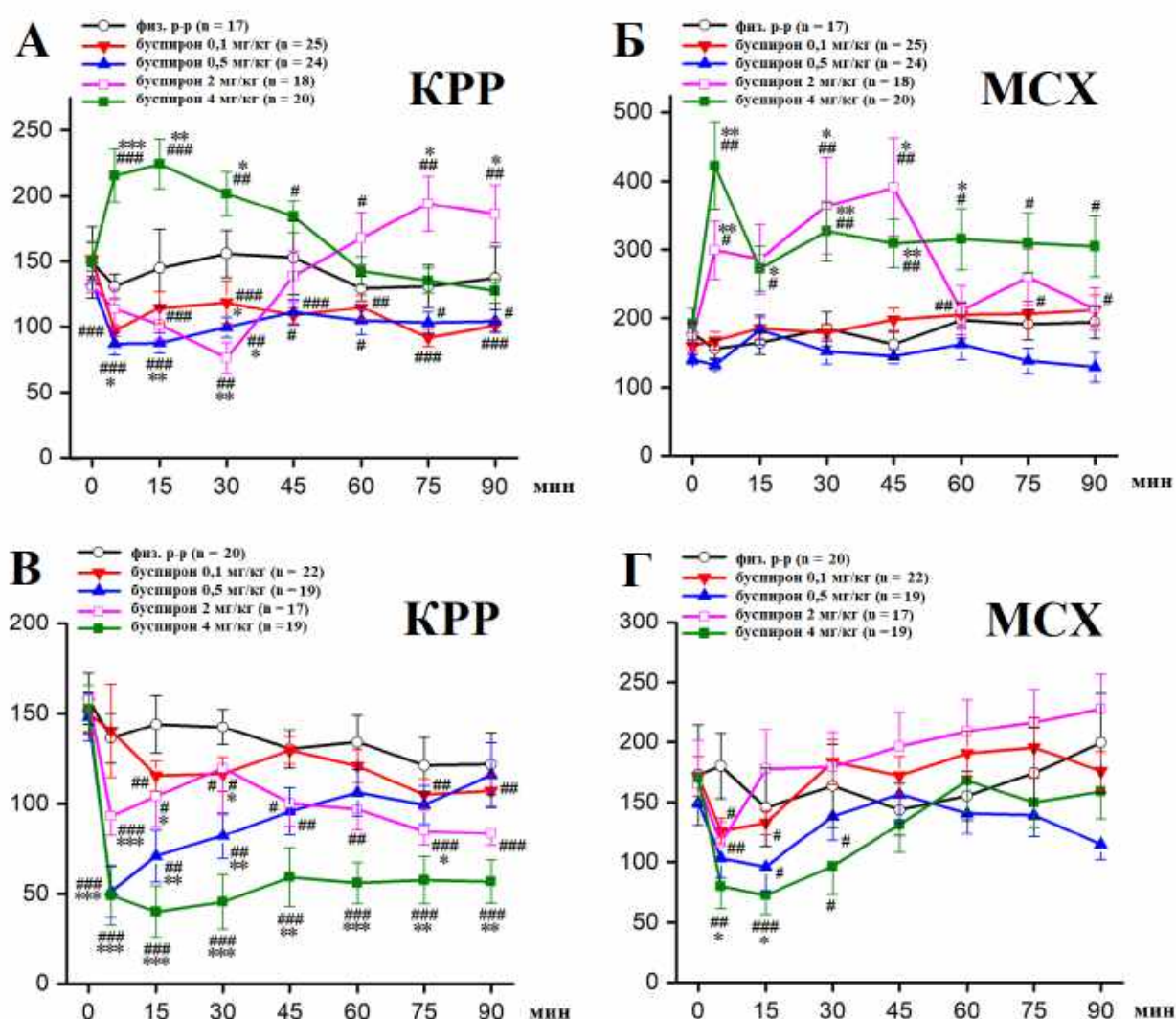


Рис. 7. Эффекты малых (0,1 и 0,5 мкг/кг) и больших (2 и 4 мкг/кг) внутривенных доз 5-HT_{1A}-агониста буспирона на реакции возбуждения ноцицептивных нейронов БЯШ в ответ на висцеральный (KPP) и соматический (MSX) болевые стимулы у здоровых животных (А, Б) и перенесших экспериментальный колит (В, Г). По оси абсцисс – вызванная импульсация в % от фоновой активности. По оси ординат – время после внутривенной инъекции. Значимые изменения по сравнению с соответствующим исходным (до инъекции) уровнем: # $p < 0,05$, ## $p < 0,01$ и ### $p < 0,001$, парный тест Вилкоксона. Значимые различия по сравнению с контролем (физ. раствор): * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ и *** $p < 0,001$,

тест Манна–Уитни–Вилкоксона. Значимость изменений дана с учетом поправки Бонферрони. Данные представлены как среднее со стандартной ошибкой.

В норме агонист 5-HT_{1A} рецепторов буспирон в малых внутривенных дозах (0,1 и 0,5 мкг/кг), которые преимущественно активируют 5-HT_{1A} ауторецепторы (Haleem, 2018), подавлял реакции возбуждающихся ноцицептивных нейронов БЯШ на висцеральный болевой стимул (рис. 6А), а в больших дозах, способных активировать 5-HT_{1A} гетерорецепторы (Loane, Politis, 2012) – усиливал нейрональное возбуждение в ответ на КРР и МСХ (рис. 7А, Б). В свою очередь, в постколитный период (29 – 60 сутки после инициации колита) все дозы буспирона в разной степени, но подавляли реакции возбуждающихся нейронов БЯШ на висцеральный и соматический болевые стимулы (рис. 7В, Г).

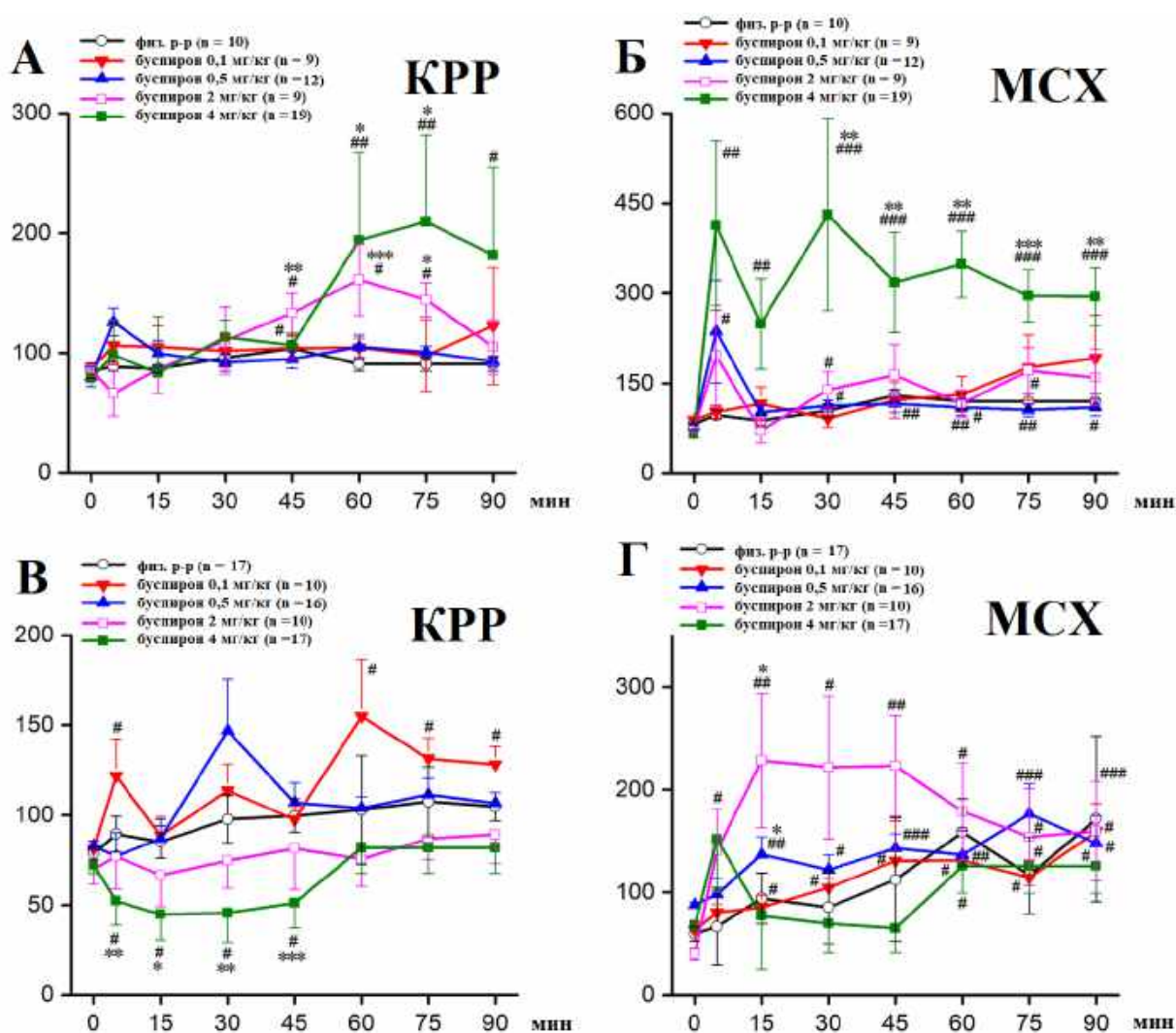


Рис. 8. Эффекты малых (0,1 и 0,5 мкг/кг) и больших (2 и 4 мкг/кг) внутривенных доз 5-HT_{1A}-агониста буспирона на тормозные реакции ноцицептивных нейронов БЯШ на

висцеральный (KPP) и соматический (МСХ) болевые раздражения у здоровых животных (А, Б) и перенесших экспериментальный колит (В, Г). По оси абсцисс – вызванная импульсация в % от фоновой активности. Значимость изменений дана с учетом поправки Бонферрони. Данные представлены как среднее со стандартной ошибкой. Остальные обозначения как на рис. 6.

Что касается тормозящихся ноцицептивных нейронов БЯШ, то в группе здорового контроля большие дозы буспилона (2 и 4 мг/кг) инвертировали их тормозные реакции на KPP и МСХ в возбуждающиеся (рис. 8А, Б). Тогда как у постколитных животных устойчивого инвертирующего действия буспилона на тормозные реакции нейронов БЯШ не наблюдалось. Напротив, нейрональное торможение при KPP после введения 4 мг/кг усиливалось (рис. 7В).

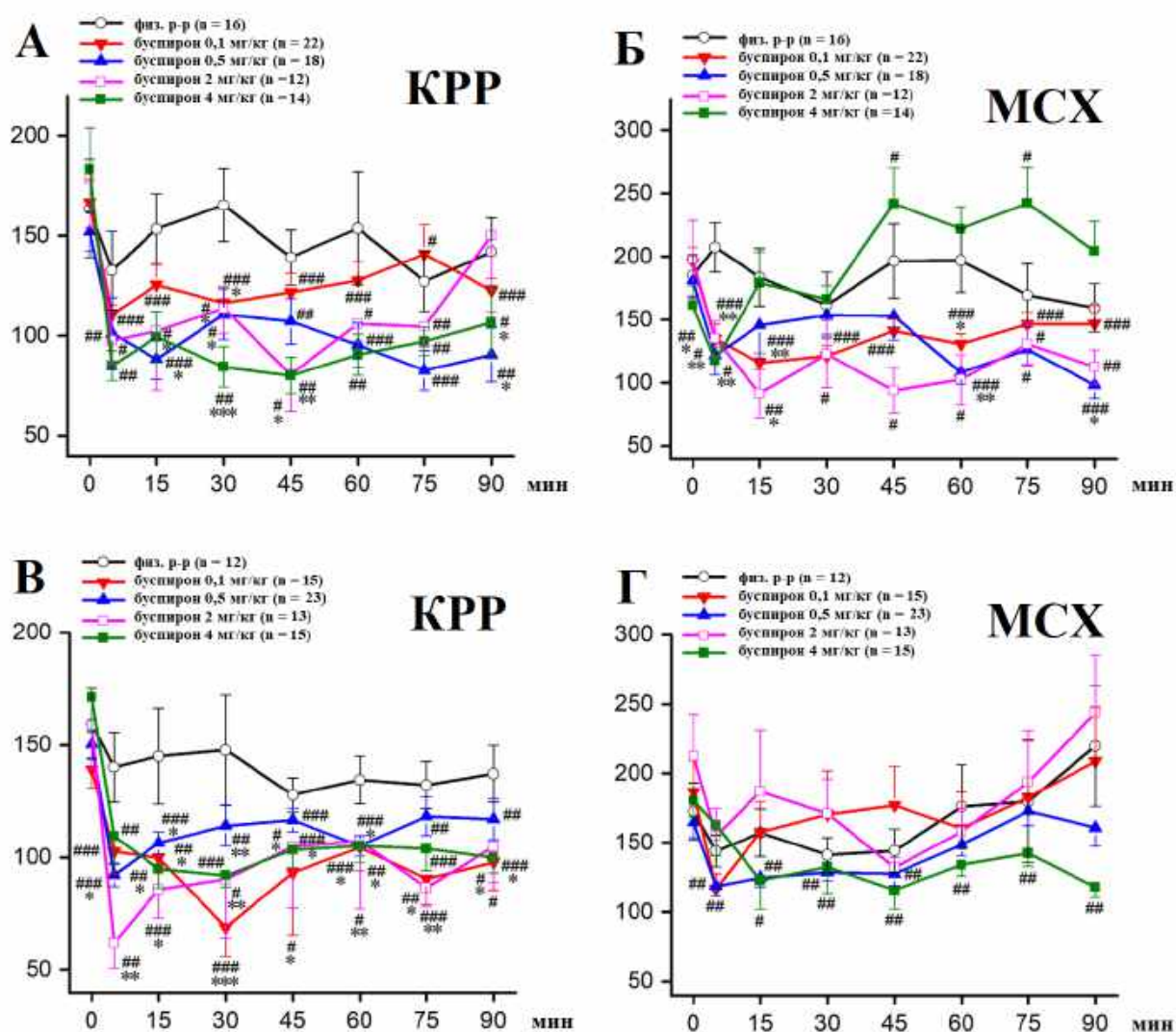


Рис. 9. Эффекты малых (0,1 и 0,5 мк/кг) и больших (2 и 4 мк/кг) внутривенных доз 5-НТ1А-агониста буспилона на реакции возбуждения нейронов ДЯШ в ответ на висцеральный (KPP) и соматический (МСХ) болевые стимулы у здоровых крыс (А, Б) и перенесших

экспериментальный колит (В, Г). По оси абсцисс – вызванная импульсация в % от фоновой активности. По оси ординат – время после внутривенной инъекции. Значимость изменений дана с учетом поправки Бонферрони. Данные представлены как среднее со стандартной ошибкой. Остальные обозначения как на рис. 6.

В ДЯШ 5-НТ1А-агонист демонстрировал противоположное действие. У крыс из группы здорового контроля в больших и малых внутривенных дозах он подавлял возбуждающиеся реакции нейронов на висцеральный и соматический болевые стимулы (рис. 9А, Б). Тогда как у крыс, перенесших колит, тормозное действие разных доз буспирона на возбуждение нейронов ДЯШ при КРР было непродолжительным (рис. 9В), а на МСХ – существенно ослабло (рис. 9Г).

Полученные данные позволяют полагать, что в норме активация 5-НТ1А ауторецепторов снижает реактивность нейронов БЯШ и ДЯШ как к висцеральным, так и соматическим болевым стимулам. В свою очередь, 5-НТ1А гетерорецепторы, очевидно, вносят противоположный вклад в ноцицептивную активность этих структур, усиливая её в БЯШ и подавляя в ДЯШ. Это может способствовать висцеральному и соматическому антиноцицептивным эффектам при их стимуляции большими дозами буспирона, первый из которых был отмечен у бодрствующих животных в работах нашей лаборатории (Lyubashina et al., 2023), а второй – в исследованиях других авторов (Haleem, 2018; Haleem, Nawaz, 2017). Однако после колита в БЯШ начинает преобладать тормозный нейрональный контроль со стороны как 5-НТ1А ауто-, так и гетерорецепторов и, наоборот, тормозная функция обоих типов становится ослабленной в ДЯШ. Это может быть причиной отмеченного нами и другими авторами парадоксального усиления висцеральной болевой чувствительности при действии активирующих 5-НТ1А гетерорецепторы доз буспирона (Lyubashina et al., 2023; Mickle et al., 2012).

***Ноцицептивная активации серотонин-синтезирующих клеток
большого и дорсального ядер шва и уровень экспрессии в них 5-HT_{1A}
рецепторов в норме и после инициации колита***

При анализе поперечных срезов мозга крыс, обработанных по авидин-биотин-пероксидазному методу (рис. 10), было установлено, что в норме болевые раздражения вызывают увеличение количества с-Fos-позитивных нейронов в БЯШ и в ДЯШ (рис. 11).

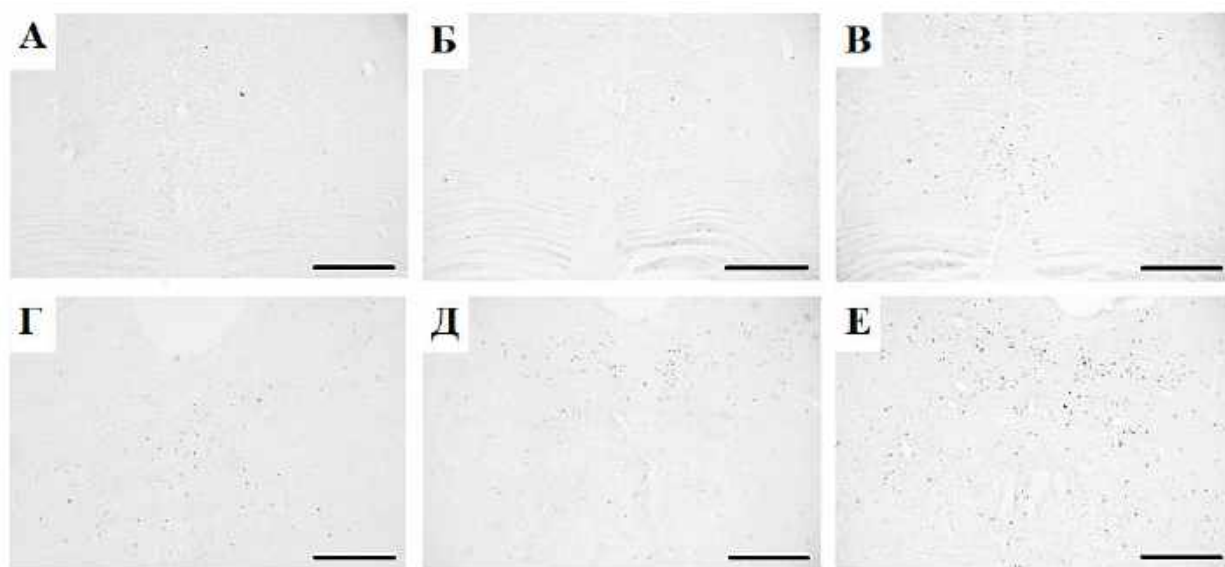


Рис. 10. Микрофотографии иммуногистохимически обработанных поперечных срезов мозга крысы через область БЯШ на уровне 10,2 мм каудальнее брегмы (А – В) и ДЯШ на уровне 7,6 мм каудальнее брегмы (Г – Е) у здоровых крыс, демонстрирующие с-Fos-позитивные ядра нейронов в стимуляционном контроле (А, Г), после висцерального (Б, Д) и соматического (В, Е) болевых раздражений. Масштабная линия – 300 мкм

В обоих ядрах различий в локализации нейронов, активируемых разными стимулами, не наблюдалось. Однако реактивность нейронов БЯШ к растяжению кишки была меньше, чем к сдавливанию хвоста, тогда как с-Fos-синтезирующие клетки ДЯШ в равной степени активировались при активации висцерального и соматического болевых входов (рис. 11А, Б).

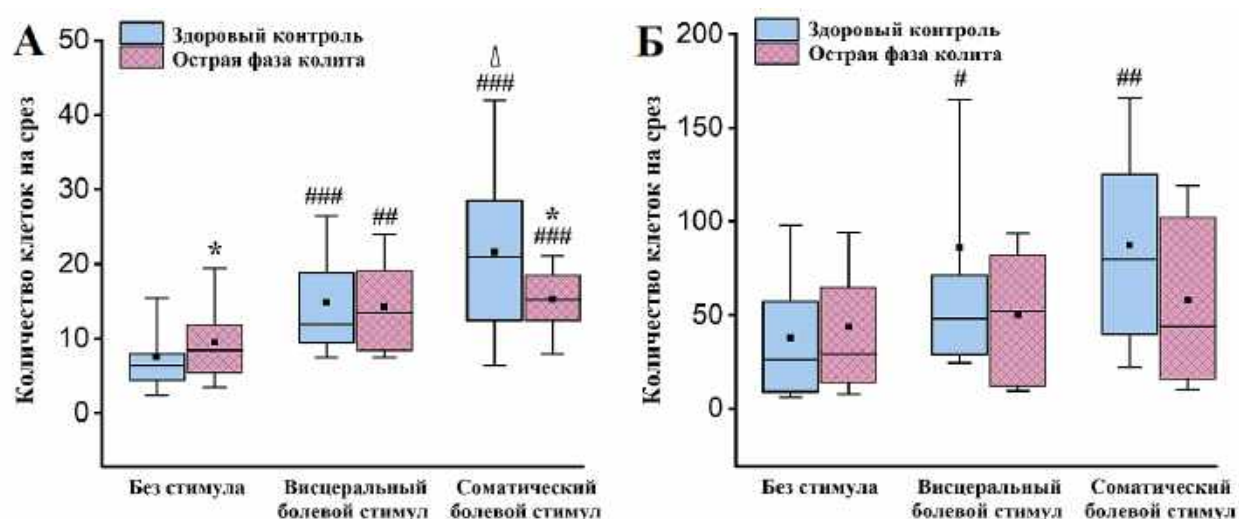


Рис. 11. Количество c-Fos-позитивных нейронов в БЯШ (А) и ДЯШ (Б) у крыс без стимуляции, после висцерального или соматического болевых раздражений в группе здорового контроля и в группе с острым колитом. На (А, В) верхняя и нижняя границы каждого прямоугольника — первый и третий квартили (25-й и 75-й проценти соответственно), горизонтальная линия внутри — медиана (50-й процентиль), квадрат — среднее арифметическое, концы отрезков — 10-й и 90-й проценти. Значимые различия (тест Манна-Уитни-Вилкоксона) по сравнению со стимуляционным контролем: # $p < 0,05$, ## $p < 0,01$, ### $p < 0,001$; по сравнению со здоровым контролем: * $p < 0,05$; по сравнению с висцеральной болевой стимуляцией: $\Delta p < 0,05$.

Как показали результаты двойного флуоресцентного иммуногистохимического процессинга (рис. 12), лишь в среднем $38,6 \pm 2,3\%$ c-Fos-позитивных клеток БЯШ и $27,7 \pm 1,0\%$ нейронов в ДЯШ у крыс в покое и после болевых воздействий синтезировали серотонин. В обоих ядрах увеличение их количества наблюдалось только после сдавливания хвоста (рис. 13А, Б).

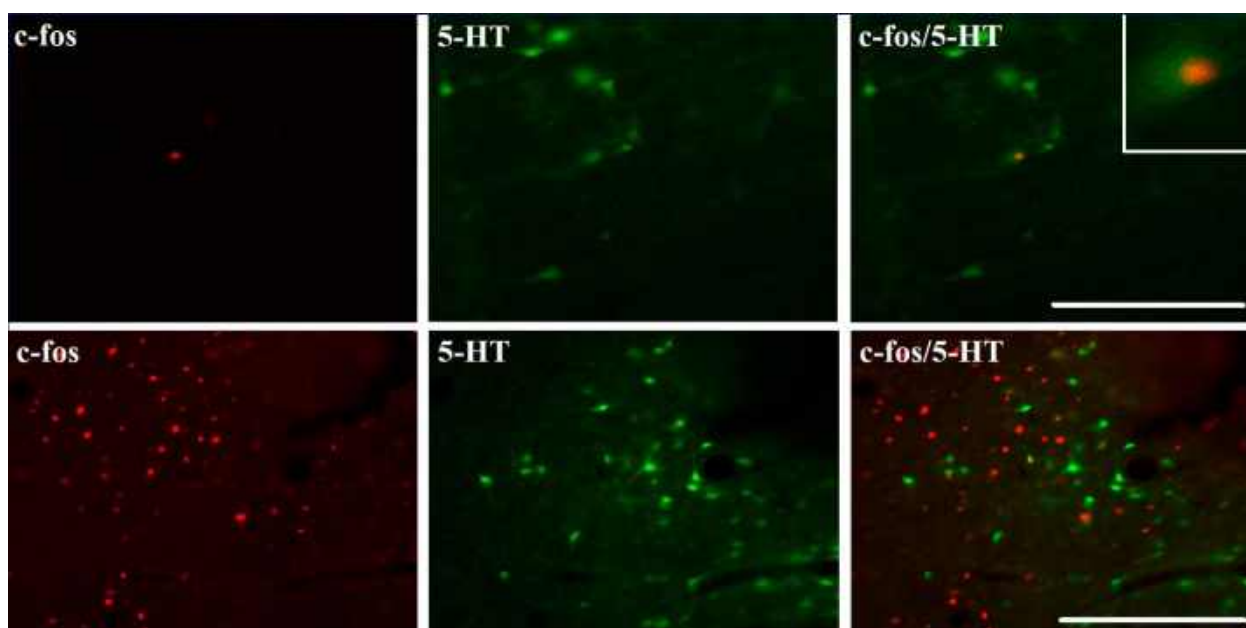


Рис. 12. Микрофотографии иммуногистохимически обработанных срезов мозга, демонстрирующие с-Fos, серотонин (5-НТ)- и с-Fos/5-НТ-позитивные клетки в левой части БЯШ (верхний ряд) и левой ветролатеральной части ДЯШ (нижний ряд) у животных здорового контроля, подвергшихся висцеральной болевой стимуляции. На с-Fos длина волны 568 нм, на 5-НТ – 488 нм. Масштабная линия – 500 мкм.

При МСХ в БЯШ их доля среди всех с-Fos-синтезирующих нейронов существенно не изменялась, тогда как в ДЯШ увеличивалась до $30,2 \pm 1,8\%$, что превышали таковую при КРР ($p = 0,008$, $U = 4$, тест Манна–Уитни–Вилкоксона).

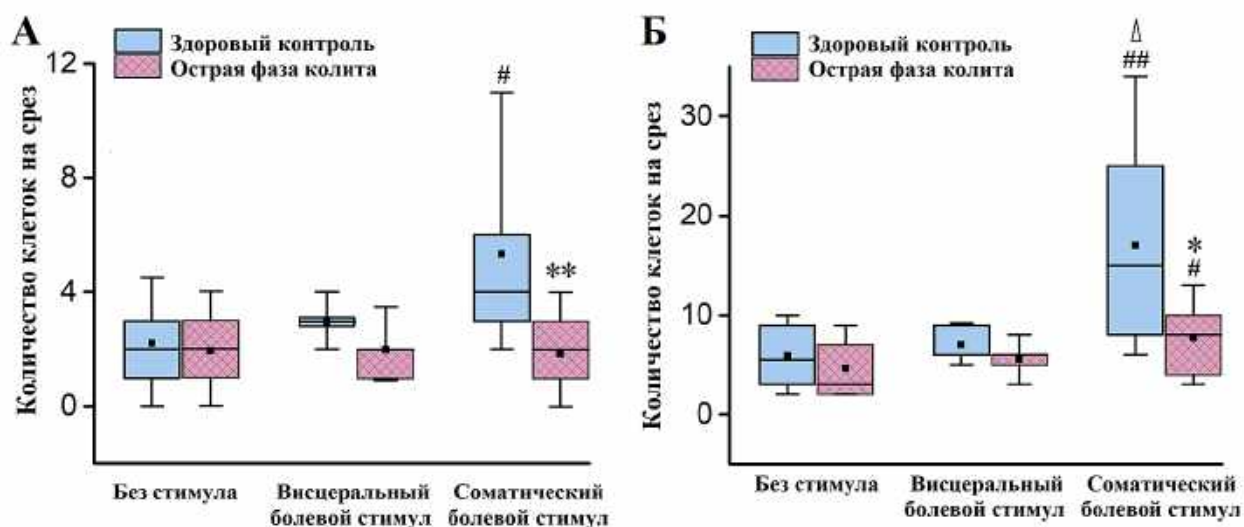


Рис. 13. Количество с-Fos/5-НТ-позитивных нейронов в БЯШ (А) и ДЯШ (Б) у крыс без стимуляции, после висцерального или соматического болевых раздражений в группе здорового контроля и в группе с острым колитом. Значимые различия (тест Манна-Уитни-Вилкоксона) по сравнению со стимуляционным контролем: # $p < 0,05$, ## $p < 0,01$; по сравнению со здоровым контролем: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$; по сравнению с висцеральной болевой стимуляцией: ^ $p < 0,05$. Остальные обозначения как на рис. 11.

При остром колите было отмечено увеличение базального (в покое) количества с-Fos-позитивных нейронов в БЯШ с сохранением их реактивности к висцеральной ноцицепции, но сниженной реакции на соматическую (рис. 11А). В этих условиях ДЯШ не проявляло изменений в базальном уровне с-Fos-синтезирующей нейрональной активности по сравнению с нормой и не демонстрировало выраженных изменений в числе таких нейронов в ответ на какой-либо вид боли (рис. 11Б).

Существенных изменений в базальном количестве с-Fos/5-НТ клеток в БЯШ и ДЯШ при кишечном воспалении по сравнению со здоровым контролем

не наблюдалось (рис. 13А, Б). При этом БЯШ демонстрировало индифферентность серотониновых нейронов не только к висцеральной, но и соматической ноцицепции (рис. 13А). В свою очередь, в ДЯШ крыс с колитом висцеральная болевая стимуляция также не вызывала реакции с их стороны, тогда как соматическое болевое раздражение по-прежнему вызвало активацию серотонин-синтезирующих нейронов ДЯШ, хоть и в меньшей степени, чем в отсутствие патологии (рис. 13Б).

Как показали специальные исследования, даже после разрешения колита (на 32 – 36 день после его инициации) сохраняется незначительно повышенная базальная (в покое) с-Fos-синтезирующая активность нейронов БЯШ, уровень которой не меняется при висцеральной болевой стимуляции (рис. 14А). ДЯШ в постколитный период демонстрировало существенное усиление базальной активности с-Fos-синтезирующих клеток по сравнению с нормой, но также характеризовалось практически полным отсутствием их реакции на растяжение кишки (рис. 14А). При этом в обоих ядрах серотонин-синтезирующие нейроны демонстрировали индифферентность к висцеральной болевой стимуляции (рис. 14Б).

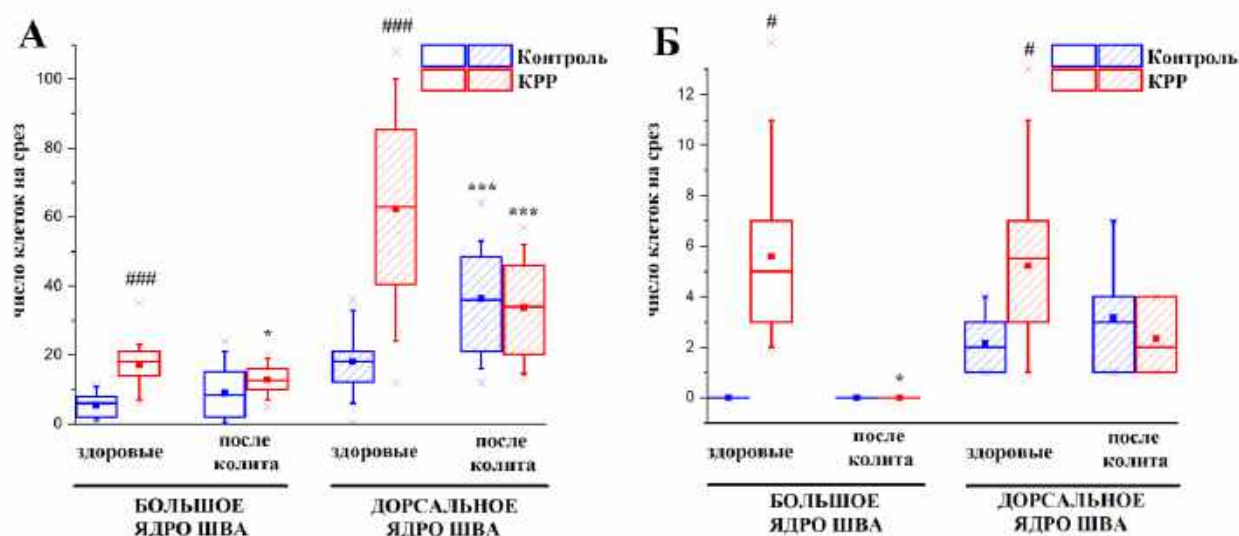


Рис. 14. Количество нейронов БЯШ и ДЯШ, демонстрировавших иммунопозитивность к с-Fos (А) и с-Fos/5-HT (Б) у здоровых крыс (здоровый контроль) и животных, перенесших колит (после колита). На (А и Б), верхняя и нижняя границы каждого прямоугольника – первый и третий квартили (25-й и 75-й процентиля) соответственно, поперечная линия – медиана (50-й процентиль), точка – среднее арифметическое, концы отрезков – 10-й и 90-й квартили, крестики — минимальное и максимальное значения в выборке. Значимые различия (тест Манна-Уитни-Вилкоксона) с соответствующим значением в

стимуляционном контроле: # $p < 0,05$, ### $p < 0,001$ и с соответствующим значением у здоровых животных * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$).

Вестерн-блот анализ количества белка 5-HT_{1A} рецепторов в исследуемых структурах мозга в поствоспалительный период (через 30 дней после инициации колита) показал значимое по сравнению с нормой снижение его экспрессии в БЯШ (рис. 15А) при увеличении его количества в ДЯШ (рис. 15Б). При этом в ноцицептивной кВЛРО, являющейся проекционной для этих ядер шва, продукция белка 5-HT_{1A} рецепторов у постколитных крыс существенно не изменилась.

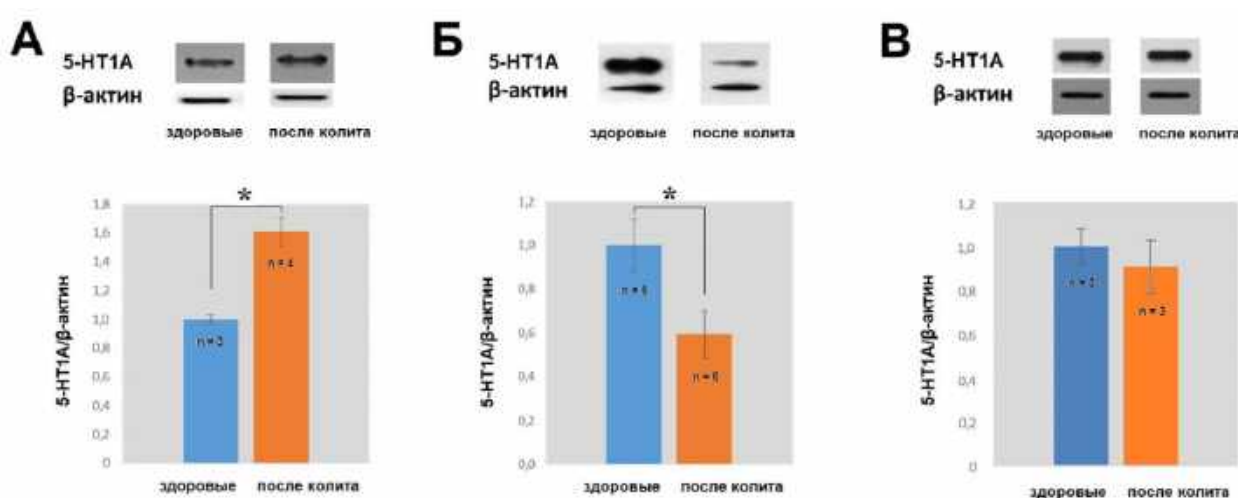


Рис. 15. Экспрессия белка 5-HT_{1A} рецепторов в образцах тканей ДЯШ (А), БЯШ (Б) и кВЛРО (В), выявленные методом вестерн-блот у здоровых и перенесших колит крыс. Над каждой диаграммой – соответствующий репрезентативный вестерн-блот с антителами к белку 5-HT_{1A} рецепторов и β-актину. На диаграммах высота столбца – количество белка 5-HT_{1A} рецепторов, отнесенное к уровню β-актина. Все значения нормализованы к среднему уровню в группе здоровых животных. Отрезки – стандартная ошибка среднего. Значимые различия между группами здоровых и постколитных крыс: * $p < 0,05$, тест Манна-Уитни-Вилкоксона.

Таким образом, продемонстрировано, что реципиентами висцеральных болевых сигналов в БЯШ и ДЯШ преимущественно являются несеротониновые нейроны, тогда как соматическая ноцицепция, наряду с несеротониновыми, активирует в них серотонин-синтезирующие клетки. Впервые обнаружено, что колит вызывает постепенное ослабление общей реактивности БЯШ сначала к соматическим, а затем - к висцеральным болевым сигналам, что ассоциировано с развивающимся дефицитом в

локальных серотонинергической трансмиссии и экспрессии 5-HT_{1A} рецепторов. В свою очередь, следствием кишечного воспаления в ДЯШ является постепенный рост общего уровня его нейрональной активности с вовлечением серотонин-синтезирующих нейронов, который сопровождается уменьшением вклада в висцеральную и соматическую ноцицепцию несеротониновых клеток на фоне усиления локального синтеза рецепторов 5-HT_{1A} подтипа. Выявленные постколитные нейрохимические и молекулярные перестройки могут нарушать серотонин-зависимые механизмы участия БЯШ и ДЯШ в нисходящем и восходящем контроле ноцицепции, способствуя развитию поствоспалительной висцеральной боли и сопутствующих ей соматических гипералгезий.

Эффекты электростимуляции БЯШ на ноцицептивные нейроны продолговатого мозга в отсутствие патологии и после разрешения колита

В этих экспериментах стимуляция БЯШ у здоровых и перенесших колит крыс по данным гистологического контроля осуществлялась в левой его части на уровне 10.5-11.2 мм каудальнее брегмы (рис. 16А). Бульбарные ноцицептивные нейроны, отвечающие на КРР и МСХ, были зарегистрированы в кВЛРО между двойным и латеральным ретикулярными ядрами (рис. 16Б).

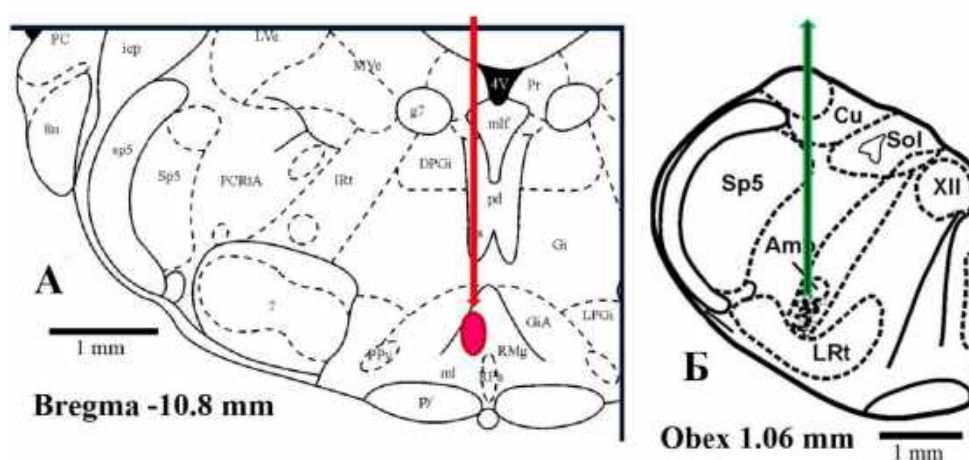


Рис. 16. Локализация области стимуляции большого ядра шва (А) и мест регистрации ноцицептивных нейронов в кВЛРО (Б) у здоровых (темные символы) и перенесших колит (светлые символы) крыс. Каждый символ соответствует локализации нескольких

зарегистрированных нейронов. Схемы срезов адаптированы из стандартного атласа мозга крысы (Paxinos, Watson, 1998).

Зарегистрированные нейроны продолговатого мозга демонстрировали дифференцированные возбуждение и торможение в ответ на КРР или МСХ, либо возбуждение при действии обоих (Рис. 17). По этим реакциям они были разделены на висцеральный, соматический и общий типы.

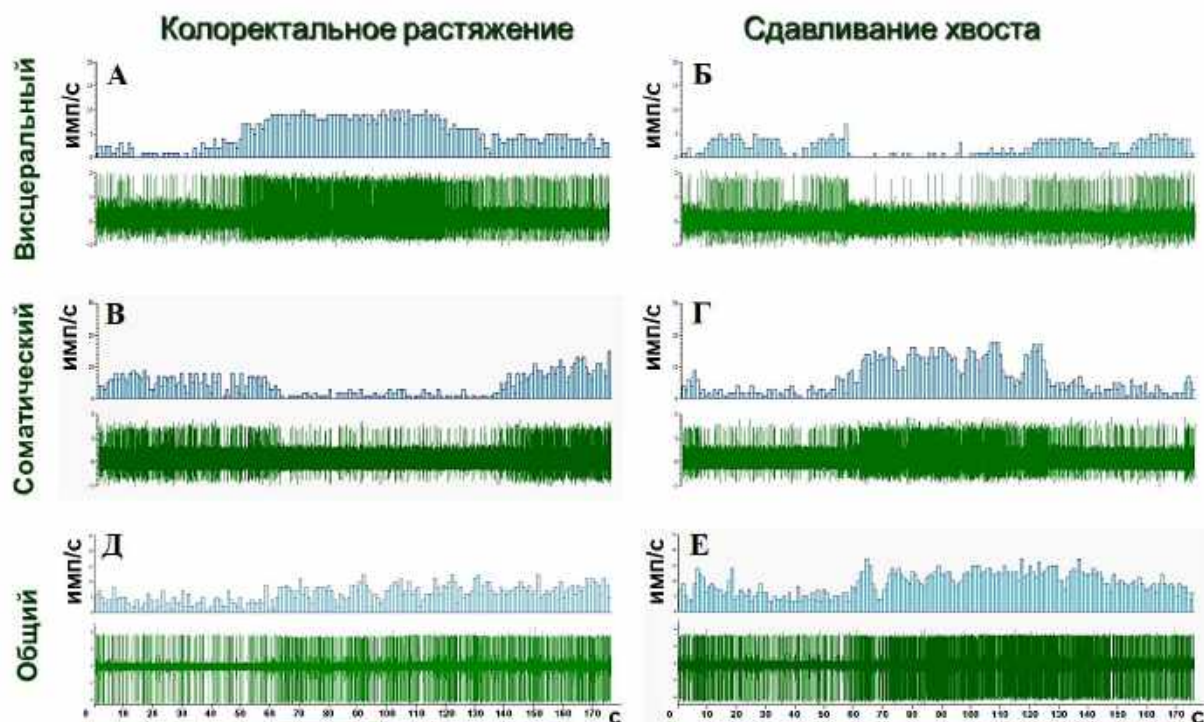


Рис. 17. Импульсные реакции висцерального, соматического и общего ноцицептивных нейронов кВЛРО, относящихся к висцеральному (А, Б), соматическому (В, Г) и общему (Д, Е) ноцицептивным типам на болевые колоректальное растяжение и сдавливание хвоста. На (А – Е), в верхней части – частотные гистограммы с бином в 1 с, в нижней части – соответствующие нативные записи импульсной активности. Горизонтальные отрезки – периоды действия болевых раздражений.

После предварительной стимуляции БЯШ мы наблюдали подавление возбуждающих ноцицептивных реакций бульбарных нейронов (рис. 18А, Б), усиление тормозных ответов (рис. 18В, Г), либо их подавление с инверсией в возбуждающие (рис. 18Д, Е). Эти эффекты зависели от типа бульбарных ноцицептивных нейронов и изменялись после колита.

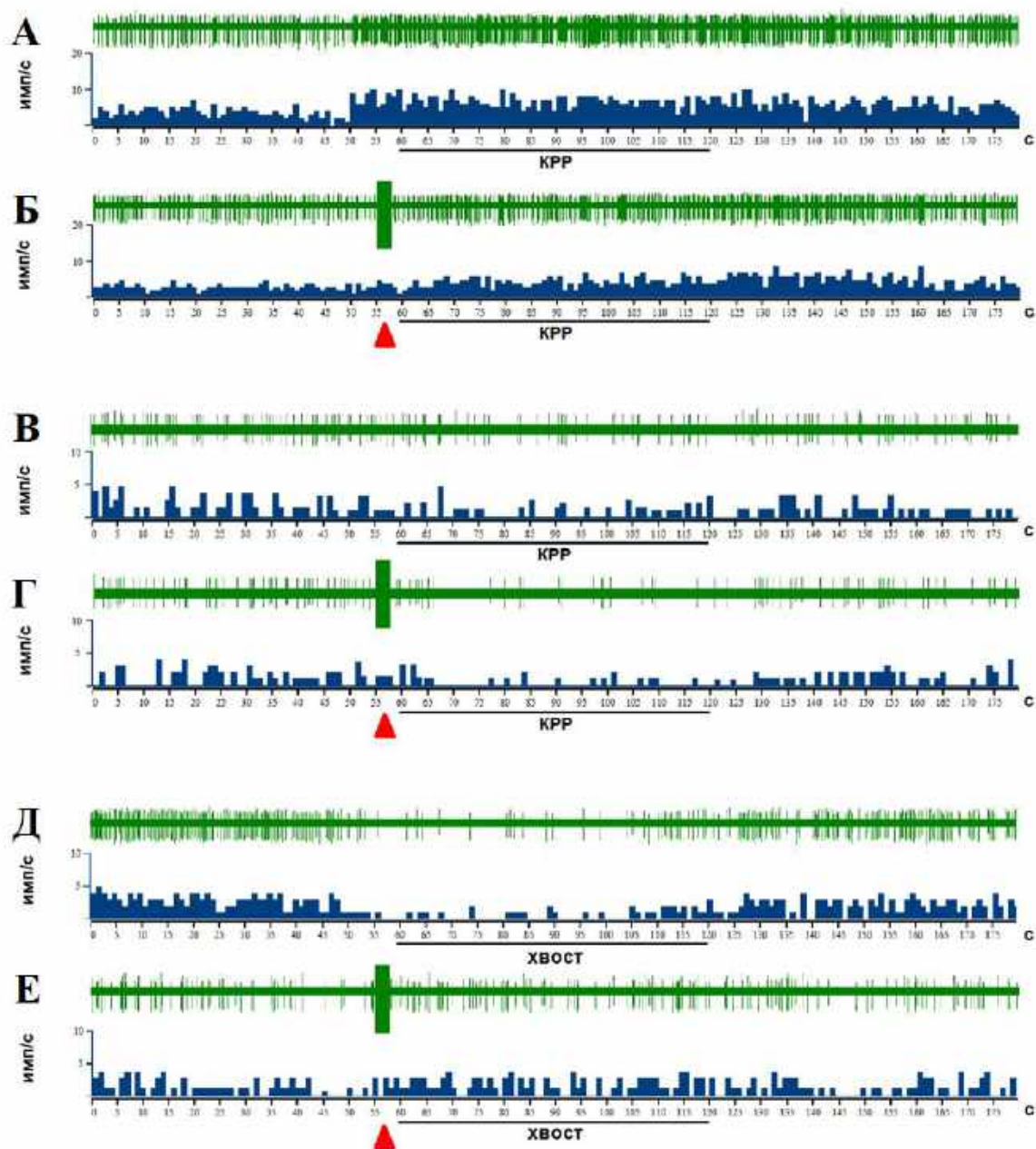


Рис. 18. Примеры эффектов предварительной (за 5 с) электростимуляции БЯШ на возбуждающую (А, Б) и тормозные (В-Е) реакций бульбарных нейронов на КРР и МСХ (хвост). На (А, В, Д), исходные реакции нейронов на болевую стимуляцию. На (Б, Г, Е), нейрональные ответы после активации большого ядра шва. Красный треугольник – электрическая стимуляция большого ядра шва. Длинные линии – время действия болевых раздражений. Остальные обозначения как на рис. 17.

У нейронов висцерального типа стимуляция БЯШ в норме приводила к подавлению их возбуждающих реакций на висцеральный стимул и инверсии их тормозного ответа на соматический стимул в возбуждающий (рис. 19). Последний эффект в постколитный период существенно ослабевал (рис. 19Б).

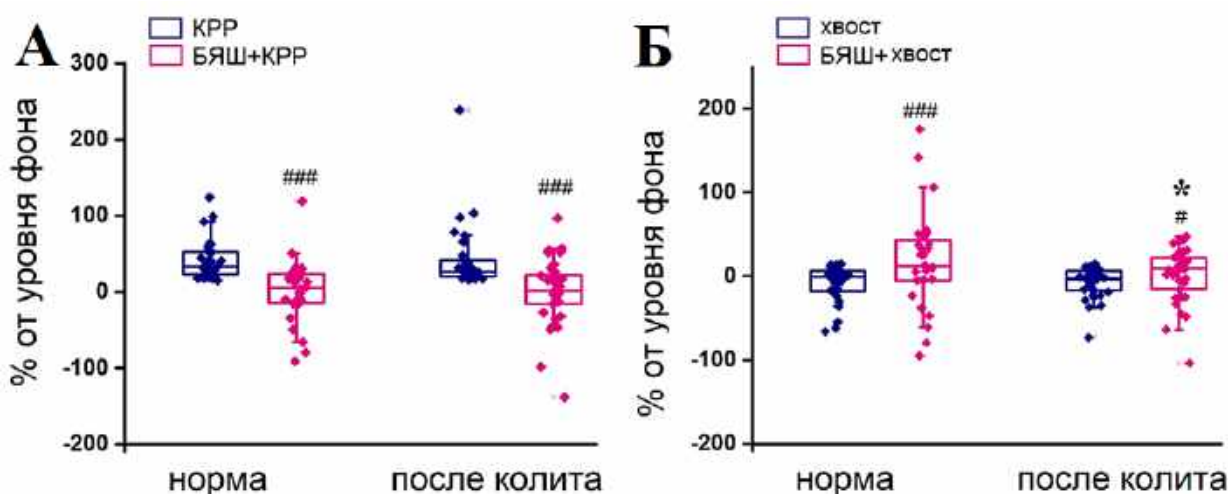


Рис. 19. Амплитуда реакций нейронов продолговатого мозга, относящихся к висцеральному ноцицептивному типу, на болевые КРР и МСХ (хвост) исходно и после предварительной электрической стимуляции большого ядра шва (БЯШ+) у крыс из группы здорового контроля (норма) и животных после колита. На (А и Б), верхняя и нижняя границы каждого прямоугольника – первый и третий квартили (25-й и 75-й процентиля соответственно), горизонтальная линия внутри – медиана (50-й процентиль), концы отрезков – 10-й и 90-й процентиля, ромбы – индивидуальные значения в выборке. Значимые различия по сравнению с соответствующим значением до электростимуляции: # $p < 0,05$, ### $p < 0,001$ (парный тест Вилкоксона) и по сравнению с соответствующим значением в группе здорового контроля (норма): * $p < 0,05$ (тест Манна-Уитни-Вилкоксона).

Нейроны соматического типа испытывали только тормозные влияния БЯШ, которые проявлялись в усилении тормозных ответов на висцеральный и подавлении возбуждающих реакций на соматический стимул (рис. 20). Однако усиливающее влияние БЯШ на вызываемый КРР тормозный нейрональный ответ существенное ослабевало после перенесенного колита (рис. 20А).

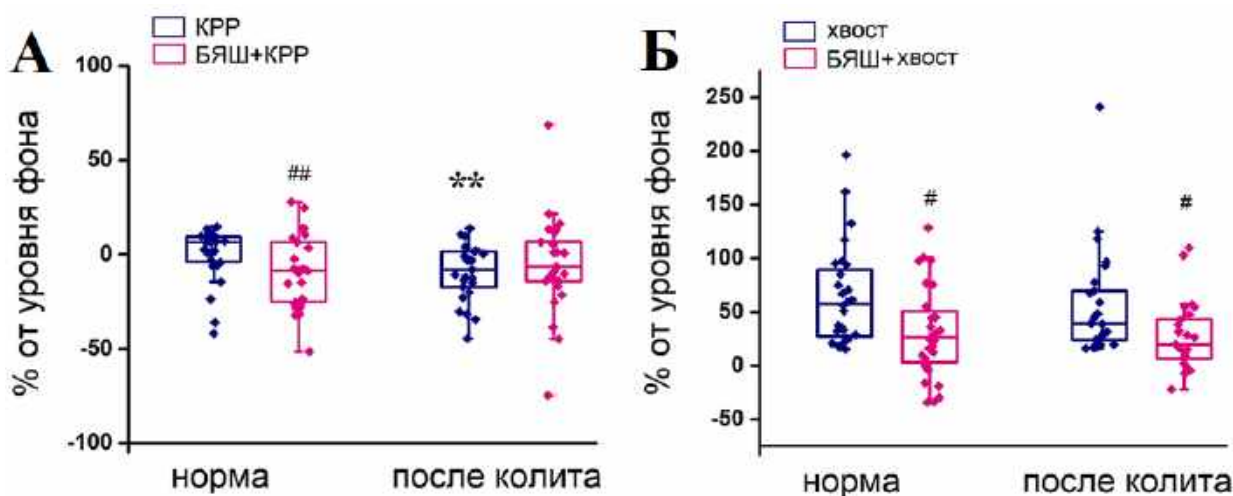


Рис. 20. Амплитуда реакций нейронов продолговатого мозга, относящихся к соматическому ноцицептивному типу, на болевые КРР и МСХ (хвост) исходно и после предварительной электрической стимуляции большого ядра шва (БЯШ+) у крыс из группы

здорового контроля (норма) и животных после колита. Значимые различия по сравнению с соответствующим значением до электростимуляции: # $p < 0,05$, ## $p < 0,01$ (парный тест Вилкоксона) и по сравнению с соответствующим значением в группе здорового контроля (норма): ** $p < 0,01$ (тест Манна-Уитни-Вилкоксона). Остальные обозначения как на рис. 19.

У нейронов общего типа стимуляция БЯШ вызывала уменьшение возбуждающей реакции на висцеральное болевое раздражение, но не могла подавить такую же реакцию на соматическое (рис. 21). В постколитный период первый эффект БЯШ усиливался, тогда как второй не изменялся.

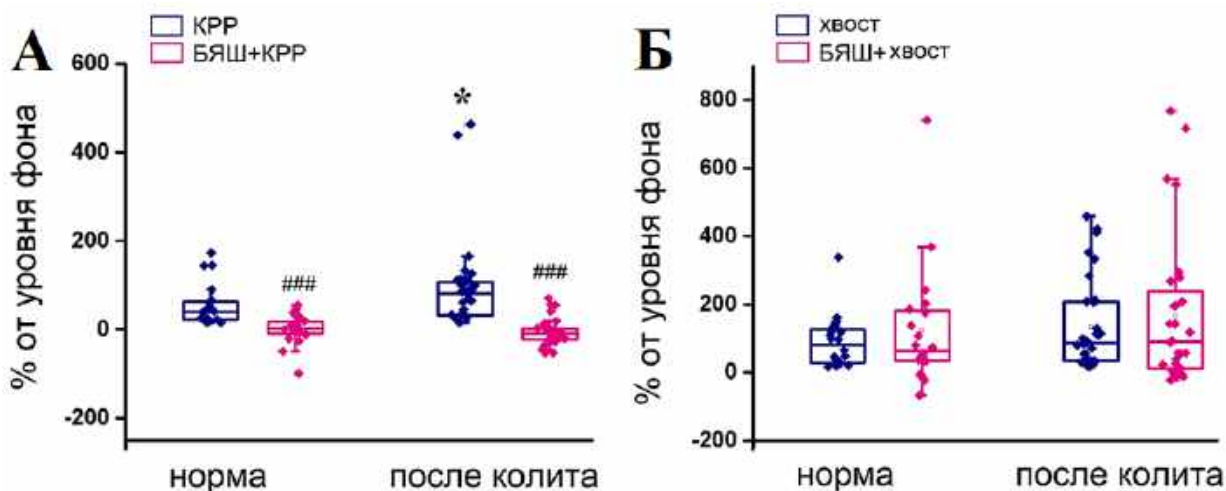


Рис. 21. Амплитуда реакций нейронов продолговатого мозга, относящихся к общему ноцицептивному типу, на болевые КРР и МСХ (хвост) исходно и после предварительной электрической стимуляции большого ядра шва (БЯШ+) у крыс из группы здорового контроля (норма) и животных после колита. Значимые различия по сравнению с соответствующим значением до электростимуляции: ### $p < 0,001$ (парный тест Вилкоксона). Значимые различия по сравнению с соответствующим значением в группе здорового контроля (норма): * $p < 0,05$ (тест Манна-Уитни-Вилкоксона). Остальные обозначения как на рис. 19.

Таким образом, впервые установлено, что большое ядро шва способно оказывать дифференцированные влияния на популяции бульбарных висцеральных и соматических ноцицептивных нейронов, подавляя их возбуждающие и усиливая тормозные реакции на висцеральное болевое раздражение при параллельном подавлении обоих типов ответов на соматический болевой стимул. В постколитный период происходит ослабление влияний этого ядра на тормозные висцеральную и соматическую болевые трасмиссии в продолговатом мозге, тогда как его эффекты на ноцицептивное возбуждение бульбарных нейронов сохраняются и даже

усиливаются. В совокупности с выявленным ранее постколитным нарастанием тормозных ноцицептивных процессов в большом ядре шва с ослаблением локальной серотонинергической передачи, продемонстрированные изменения в его нисходящих влияниях могут способствовать нарушению функций этой структуры в эндогенной антиноцицептивной системе.

Выводы

1. Большое и дорсальное ядра шва, помимо неселективно возбуждающихся или тормозящихся при разных болевых воздействиях нейронов, содержат клетки, которые избирательно реагируют на висцеральное или соматическое болевое раздражение.

2. Для постколитного периода характерно усиление процессов нейронального торможения в БЯШ при поступлении болевых сигналов, особенно выраженное при висцеральном болевом воздействии. Нейроны ДЯШ в этих условиях демонстрируют снижение способности избирательно отвечать на висцеральные болевые сигналы, усиливая неселективное возбуждение в ответ на висцеральные или соматические болевые стимулы.

3. Активация системы 5-HT_{1A} ауторецепторов снижает реактивность нейронов большого и дорсального ядер шва как к висцеральным, так и соматическим болевым раздражениям, тогда как стимуляция 5-HT_{1A} гетерорецепторов усиливает ноцицептивную активацию нейронов разного типа в БЯШ и подавляет её в ДЯШ. После перенесенного колита в БЯШ преобладают тормозные нейрональные эффекты активации как 5-HT_{1A} ауто-, так и гетерорецепторов, тогда как в ДЯШ тормозная функция обоих видов 5-HT_{1A} рецепторов ослабевает.

4. Рецеппиентами висцеральных болевых сигналов в большом и дорсальном ядрах шва преимущественно являются несеротониновые нейроны, тогда как соматическая ноцицепция, наряду с несеротониновыми, активирует в этих ядрах серотонин-синтезирующие клетки.

5. Кишечное воспаление вызывает ослабление ноцицептивной активности серотониновых нейронов в БЯШ при сохранении её уровня в ДЯШ, но меньшем вовлечении в ноцицепцию несеротониновых клеток последнего. Эти изменения сопровождаются снижением уровня экспрессии 5-HT_{1A} рецепторов в БЯШ и её усилением в ДЯШ.

6. Впервые показано, что БЯШ способно оказывать тормозные влияния на избирательные и неселективные реакции нейронов продолговатого мозга на разные болевые стимулы, вызывая ослабление их возбуждающих и усиление тормозных ответов на висцеральную стимуляцию при подавлении всех реакций на соматическое раздражение. В постколитный период тормозные влияния БЯШ на разные популяции ноцицептивных нейронов продолговатого мозга существенно ослабевают.

Список сокращений

5-HT_{1A} рецепторы – серотониновые рецепторы 1A подтипа
БЯШ – большое ядро шва
ДЯШ – дорсальное ядро шва
кВЛРО – каудальная вентролатеральная ретикулярная область продолговатого мозга
КРР – колоректальное растяжение
МСХ – механическое сдавливание хвоста

Список опубликованных статей по теме работы

Lyubashina O.A., **Sushkevich B.M.**, Sivachenko I.B. Postcolitis Alterations in Dose-Dependent Effects of 5-HT_{1A} Agonist Buspirone on Nociceptive Activity of the Raphe Magnus and Dorsal Raphe Neurons in Rats. *European Journal of Neuroscience*, 2025; 61: e16677. <https://doi.org/10.1111/ejn.16677>

Сушкевич Б.М., Сиваченко И.Б., Любашина О.А. Эффекты стимуляции большого ядра шва на ноцицептивные нейроны каудальной вентролатеральной ретикулярной области продолговатого мозга крысы в норме и после перенесенного кишечного воспаления. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*, 2024, том 60, № 5, с. 509–525. DOI:

10.31857/S0044452924050052 [Sushkevich, B.M., Sivachenko, I.B., Lyubashina, O.A. Effects of the Nucleus Raphe Magnus Stimulation on Nociceptive Neurons of the Rat Caudal Ventrolateral Medulla in Normal Conditions and after Intestinal Inflammation. Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology, 2024, v. 60, N 4, p. 1447–1463. <https://doi.org/10.1134/S002209302404015X>]

Сушкевич Б.М., Михалкин А.А., Любашина О.А. Эффекты колита на вовлечение серотонинергических и несеротониновых нейронов в ноцицептивную активацию ядер шва. Интегративная физиология, 2024, т. 5, № 3, с. 307–317. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-3-307-317>

Сушкевич Б.М., Сиваченко И.Б., Любашина О.А. Постколитные перестройки в ноцицептивных свойствах нейронов большого и дорсального ядер шва крысы. Журнал эволюционной биохимии и физиологии, 2023, том 59, № 4, с. 293–310. DOI: 10.31857/S004445292304006X [Sushkevich B.M., Sivachenko I.B., Lyubashina O.A. Postcolitis alterations in nociceptive properties of neurons in the rat nucleus raphe magnus and dorsal raphe nucleus. Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology, 2023, Vol. 59, No. 4, pp. 1057–1076. DOI: 10.1134/S0022093023040051]

Сушкевич, Б. М., Михалкин, А. А., Любашина, О. А. Дифференцированные реакции нейронов большого и дорсального ядер шва крысы на висцеральные и соматические болевые сигналы. Интегративная физиология, 2023, т. 4, № 3, с. 312–323. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-312-323>

Lyubashina, O. A., Sivachenko, I. B., **Sushkevich, B. M.**, Busygina, I. I. Opposing effects of 5-HT_{1A} receptor agonist buspirone on supraspinal abdominal pain transmission in normal and visceral hypersensitive rats. Journal of Neuroscience Research, 2023, 101, 1555–1571. <https://doi.org/10.1002/jnr.2522>

Список цитируемой литературы

1. Абдоминальный болевой синдром: Учебное пособие для студентов. Ч1. ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Министерства здравоохранения России. – М.: РГИМУ, 2020. – 68 с.
2. Абрамова А. Ю., Перцев С. С. (2017) Современные представления о боли. Медицинская сестра, 8: 20-25.

3. Ардатская М. Д., Топчий Т. Б. Абдоминальная боль и висцеральная гиперчувствительность у пациентов с синдромом раздраженного кишечника. Римские критерии IV и клиническая практика. – М.: Прима-Принт, 2017. – 63 с.
4. Баряева О. Е. Абдоминальный болевой синдром: Учебное пособие – Иркутск: ИГМУ, 2014 – 87 с.
5. Гаус О. В., Ливзан М. А. (2020) Фундаментальные основы формирования абдоминальной боли у пациентов с синдромом раздраженного кишечника. Эффективная фармакотерапия. 16(15):102–111.
6. Загидуллин Н. Ш., Загидуллин Ш. З., Фархутдинов У. Р. Синдром абдоминальной боли: учебное пособие. – Уфа: Изд-во ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России, 2016. – 83 с.
7. Любашина О. А., Сиваченко И. Б., Бусыгина И. И. (2022) Особенности нейрофизиологических механизмов висцеральной и соматической боли. Успехи физиологических наук. 53(2):3–14. doi: 10.31857/S0301179822020072.
8. Bardoni R. (2019) Serotonergic modulation of nociceptive circuits in spinal cord dorsal horn. *Curr Neuropharmacol.* 17(12):1133-1145. doi: 10.2174/1570159X17666191001123900.
9. Brink T. S., Mason P. (2003) Raphe magnus neurons respond to noxious colorectal distension. *J. Neurophysiol.* 89(5):2506-2015.
10. Brink T. S., Hellman K. M., Lambert A. M., Mason P. (2006) Raphe magnus neurons help protect reactions to visceral pain from interruption by cutaneous pain. *J. Neurophysiol.* 96(6):3423-3432.
11. Charnay Y., Leger L. (2010) Brain serotonergic circuitries. *Dialogues Clin. Neurosci.* 12(4):471–487.
12. Chen Q., Heinricher M. M. (2022) Shifting the Balance: How TopDown and Bottom-Up Input Modulate Pain via the Rostral Ventromedial Medulla. *Frontiers in Pain Research (Lausanne).* 3: 932476. DOI: 10.3389/fpain.2022.932476.
13. Cortes-Altamirano J. L., Olmos-Hernandez A., Jaime H. B., Carrillo-Mora P., Bandala C., Reyes-Long S., Alfaro-Rodríguez A. (2018) Review: 5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃ and 5-HT₇ Receptors and their Role in the Modulation of Pain Response in the Central Nervous System. *Curr Neuropharmacol.* 2018;16(2):210-221. doi: 10.2174/1570159X15666170911121027.
14. Courtney N. A., Ford C. P. (2016) Mechanisms of 5-HT_{1A} receptor-mediated transmission in dorsal raphe serotonin neurons. *J. Physiol.* 594(4):953-965.
15. Do J., Woo J. (2018) From gut to brain: alteration in inflammation markers in the brain of dextran sodium sulfate-induced colitis model mice. *Clin. Psychopharmacol. Neurosci.* 16(4):422–433.
16. Fink K. B., Gothert M. (2007) 5-HT receptor regulation of neurotransmitter release. *Pharmacol. Rev.* 59:360-417.
17. Garcia-Garcia A. L., Newman-Tancredi A., Leonardo E. D. (2014) 5-HT_{1A} [corrected] receptors in mood and anxiety: recent insights into autoreceptor versus heteroreceptor function. *Psychopharmacology (Berl).* 231(4):623-636.
18. Gheorghe C. E., Martin J. A., Manriquez F. V., Dinan T. G., Cryan J. F., Clarke G. (2019) Focus on the essentials: tryptophan metabolism and the microbiome-gut-brain axis. *Curr. Opin. Pharmacol.* 48:137-145.
19. Glasgow R. E., Mulvihill S. J. Abdominal pain, including the acute abdomen // *Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease* / Eds. M. F. Feldman, L. S. Friedman, M. H. Sleisenger. — 6th ed. — Philadelphia: W. B. Saunders; London; Toronto; Monreal; Sydney; Tokyo, 2003; 1:80-90.
20. Gros M., Gros B., Mesonero J. E., Latorre E. (2021) Neurotransmitter Dysfunction in Irritable Bowel Syndrome: Emerging Approaches for Management. *J. Clin. Med.* 10(15):3429.
21. Haleem D. J. (2018) Serotonin-1A receptor dependent modulation of pain and reward for improving therapy of chronic pain. *Pharmacol Res.* 134:212-219. doi: 10.1016/j.phrs.2018.06.030.
22. Haleem D. J., Nawaz S. (2017) Inhibition of Reinforcing, Hyperalgesic, and Motor Effects of

- Morphine by Buspirone in Rats. *J Pain*. 18(1):19-28. doi: 10.1016/j.jpain.2016.10.001.
23. Heijmans L., Mons M. R., Joosten E.A. (2021) A systematic review on descending serotonergic projections and modulation of spinal nociception in chronic neuropathic pain and after spinal cord stimulation. *Mol Pain*. 17:17448069211043965. doi: 10.1177/17448069211043965.
 24. Hernández-Vázquez F., Garduño J., Hernández-López S. (2019) GABAergic modulation of serotonergic neurons in the dorsal raphe nucleus. *Rev. Neurosci*. 2019;30(3):289-303.
 25. Inyushkin A. N., Merkulova N. A., Orlova A. O., Inyushkina E. M. (2010) Local GABAergic Modulation of the Activity of Serotonergic Neurons in the Nucleus Raphe Magnus. *Neuroscience and Behavioral Physiology*. 40(8): 885–893. DOI: 10.1007/s11055-010-9337-x.
 26. Loane C, Politis M. (2012) Buspirone: what is it all about? *Brain Res*. 1461:111-8. doi: 10.1016/j.brainres.2012.04.032.
 27. Lyubashina O. A., Sivachenko I. B., Sushkevich B. M., Busygina I. I. (2023) Opposing Effects of 5-HT_{1A} Receptor Agonist Buspirone on Supraspinal Abdominal Pain Transmission in Normal and Visceral Hypersensitive Rats. *Journal of Neuroscience Research* 101, no. 10: 1555–1571. <https://doi.org/10.1002/jnr.25222>
 28. Martins I., Tavares I. (2017) Reticular Formation and Pain: The Past and the Future. *Front. Neuroanat*. 11:51.
 29. Mickle, A., Kannampalli P., Bruckert M., Miranda A., Banerjee B., Sengupta J. N. (2012) Pronociceptive Effect of 5-HT_{1A} Receptor Agonist on Visceral Pain Involves Spinal N-Methyl-D-Aspartate (NMDA) Receptor. *Neuroscience* 219: 243–254. <https://doi.org/10.1016/j.neurosci.2012.05.030>.
 30. Morris L., McCall J., Charney D., Murrough J. (2020) The role of the locus coeruleus in the generation of pathological anxiety. *Brain Neurosci. Adv*. 4. DOI: 10.1177/2398212820930321.
 31. Paxinos, G., Watson, C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 4th ed. London: Academic Press, 1998. 237 p.
 32. Reichmann F., Hassan A., Farzi A., Jain P., Schuligoi R., Holzer P. (2015) Dextran sulfate sodium-induced colitis alters stress-associated behaviour and neuropeptide gene expression in the amygdala-hippocampus network of mice. *Sci. Rep*. 5:9970.
 33. Sanoja R., Tortorici V., Fernandez C., Price T.J., Cervero F. (2010) Role of RVM neurons in capsaicin-evoked visceral nociception and referred hyperalgesia. *Eur. J. Pain*. 14(2):120.e1–e9.
 34. Takahashi K., Khwaja I. G., Schreyer J. R., Bulmer D., Peiris M., Terai S., Aziz Q. (2021) Post-inflammatory Abdominal Pain in Patients with Inflammatory Bowel Disease During Remission: A Comprehensive Review. *Crohn's & Colitis*. 360 3:4:otab073. DOI: 10.1093/crocol/otab073.
 35. Tao Z.-Y., Wang P.-X., Wei S.-Q., Traub R. J., Li J.-F., Cao D.-Y. (2019) The Role of Descending Pain Modulation in Chronic Primary Pain: Potential Application of Drugs Targeting Serotonergic System. *Hindawi Neural Plasticity*. 1389296. DOI: 10.1155/2019/1389296.
 36. Wan J., Ding Y., Tahir A.H., Shah M.K., Janyaro H., Li X., Zhong J., Vodyanoy V., Ding M. (2017) Electroacupuncture attenuates visceral hypersensitivity by inhibiting JAK2/STAT3 signaling pathway in the descending pain modulation system. *Front. Neurosci*. 11:644.
 37. Wang Q.P., Nakai Y. (1994) The dorsal raphe: an important nucleus in pain modulation. *Brain Res. Bull*. 34(6):575-585.
 38. Zhang G., Yu L., Chen Z.Y., Zhu J.S., Hua R., Qin X., Cao J.L., Zhang Y.M. (2016) Activation of corticotropin-releasing factor neurons and microglia in paraventricular nucleus precipitates visceral hypersensitivity induced by colorectal distension in rats. *Brain Behav. Immun*. 55:93–104.
 39. Zhang H., Li L., Zhang X. et al. (2024) Role of the dorsal raphe nucleus in pain processing. *Brain Sciences*. 14(10): 982. DOI: 10.3390/brainsci14100982.