

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕАКТИВНЫХ СДВИГОВ КАТЕХОЛАМИНОВ В СПИННОМ МОЗГЕ ПРИ ОСТРОЙ СОМАТИЧЕСКОЙ БОЛИ (экспериментальное исследование)

В. Г. Овсянников, А. В. Каплиев

Ростовский государственный медицинский университет

Age-Related Features of Reactive Catecholamine Shifts in the Spinal Cord in Acute Somatic Pain: Experimental Study

V. G. Ovsyannikov, A. V. Kapliyev

Rostov State Medical University, Rostov-on-Don

Цель исследования. Изучить возрастные особенности адренергической реакции ЦНС на острую соматическую боль (ОСБ). **Материалы и методы.** Исследовали содержание адреналина (А), норадреналина (НА) и дофамина (ДА) в спинном мозге (СМ) самцов белых крыс пяти возрастных групп: новорожденных (2–4-дневных), прозревших (17–18-дневных), месячных, половозрелых (3–4 месячных) и старых (старше 2-х лет). ОСБ воспроизводили методом электрокожной стимуляции корня хвоста крысы; содержание катехоламинов (КА) в СМ контрольных и опытных животных исследовали спектрофлуориметрическим микрометодом. **Результаты.** Выявлен фазный характер физиологической динамики спинальной концентрации КА у крыс в ходе постнатального онтогенеза: снижение высокого «неонатального» уровня (за счет ДА) к периоду прозревания; прогрессивный рост к препубертатному возрасту (за счет НА) и у половозрелых животных (за счет А и ДА) и редукция всех фракций КА у старых крыс. У новорожденных и старых животных ОСБ сопровождалась ростом концентрации КА в СМ, у старых с резко выраженными реактивными сдвигами всех фракций. У прозревших крыс с ОСБ при росте А и ДА концентрация НА в СМ снижалась вдвое; сумма КА не изменялась относительно контроля. У самцов препубертатного и половозрелого возраста при боли регистрировалась редукция спинального пула КА, но за счет разных составляющих: у 35-дневных – А и НА; у 3–4 месячных – А и ДА. **Заключение.** Возрастные изменения структуры спинальной КА-реакции у крыс с ОСБ выявляют онтогенетическую направленность развития адренореактивности от «незрелых» генерализованных форм раннего постнатального периода к «дефинитивным» дифференцированным экономичным реакциям гипо-нормергического типа и далее к гиперэргическим «деструктивным» реакциям старческого возраста. **Ключевые слова:** катехоламины, боль, спинной мозг, онтогенез.

Objective: to study the age-related features of an adrenergic response of the central nervous system to acute somatic pain (ASP). **Subjects and methods:** The spinal cord (SC) levels of adrenaline (A), noradrenaline (NA), and dopamine (DA) were studied in albino male rats of five age groups: 1) neonatal (2–4-day) rats; 2) 17–18-day rats that began to see; 3) monthly rats; 4) sexually mature (3–4 month) ones; and 5) old ones aged over 2 years. ASP was reproduced by electrodermal stimulation of the rat tail; the levels of catecholamines (CA) were measured by spectrofluorimetric microassay. **Results.** During postnatal ontogenesis, the rats were found to have a phase pattern of physiological changes in the spinal concentrations of CA: a decrease in their high neonatal levels (due to DA) by the time the animals began to see; their progressive increase by prepuberty (due to NA) and in sexually maturity (due to A and DA), and a reduction in all CA fractions in old rats. ASP was attended by a rise in the SC concentration of CA in the neonatal animals and by clearly-cut reactive shifts in all fractions in the old ones. With A and DA increases, the SC concentrations of NA halved in the rats that began to see and had ASP; the amount of CA remained unchanged as compared with the controls. In prepubertal and sexually mature male rats, there was a reduction in the spinal CA pool, but due to different components: to A and NA in 35-day rats and to A and DA in 3-month ones. **Conclusion.** Age-related changes in the pattern of a spinal CA response in rats with ASP show an ontogenetic trend in the development of adrenal responsiveness from the immature generalized forms of an early postnatal period to the definitive differentiated economic reactions of the hypo-to-normergic type and then to the hyperergic destructive reactions of old age. **Key words:** catecholamines, pain, spinal cord, ontogenesis.

Спинной мозг, являясь первой релейной «станцией» болевой импульсации, принимает участие в механизмах трансмиссии болевого сигнала, модуляции нозицептивного потока в системе воротного контроля и формирования двигательного компонента болевых реакций. Важная роль в этих процессах принадлежит ад-

ренергической нейромедиаторной системе [1, 2]. До настоящего времени остаются недостаточно изученными процессы онтогенетического становления центральных катехоламинергических механизмов нози- и антинозицепции. Конкретизация этих закономерностей важна как для общей теории патогенеза боли, так и для реше-

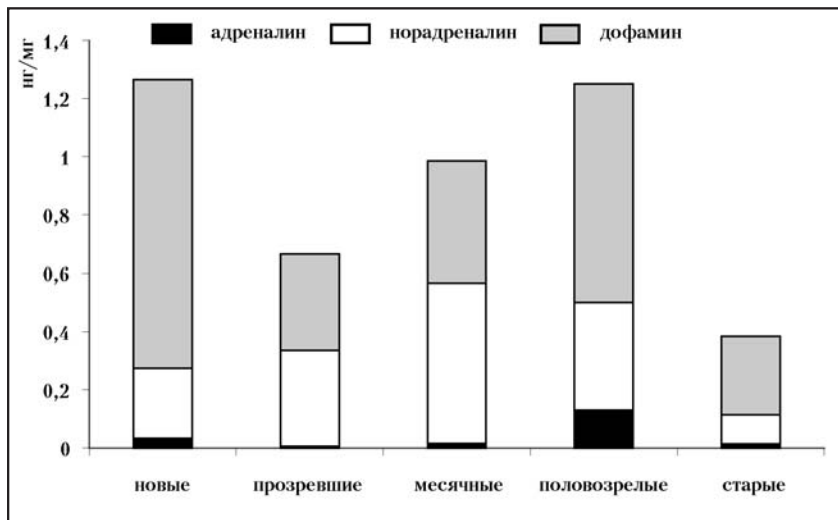


Рис. 1. Возрастные изменения катехоламинов в спинном мозге интактных самцов крыс.

По оси абсцисс: возраст; по оси ординат: концентрация катехоламинов нг/мг сырой ткани мозга.

ния одной из самых важных и актуальных проблем медицины — возрастной анестезиологии. В арсенале современной анестезиологической практики имеется много способов воздействия на многоуровневую систему боли, в том числе и на ее спинальный компонент, что лежит в основе широко распространенного метода эпидуральной анестезии. При разработке схем данного вида обезболивания часто используются агонисты α_2 -адренорецепторов [3]. Поэтому изучение роли спинальных адренергических механизмов в ноци- и антиноцицепции является весьма актуальным.

Материалы и методы

Работа выполнена на 100 беспородных самцах белых крыс 5 возрастных групп (2–4-х дневных, 17–18-ти дневных, 30–35-ти дневных, половозрелых — 3–4-х месячных и старых — старше 2-х лет) по 20 животных в каждой. В соответствии с целью работы проведено 2 серии исследований: контрольная и с моделированием острой соматической боли (ОСБ). Данные возрастные группы формировались в соответствии с физиологическими критериями периодизации постнатального онтогенеза: 1–7-е сутки — период новорожденности; 16–18-е сутки — период созревания и усиления ориентировочно-двигательной активности; конец 1-го — начало 2-го месяца жизни — ранний препубертатный период; 3–4-й месяц — зрелый репродуктивный период; старше 2-х лет — период старости. Все экспериментальные животные рождались и росли в стационарных условиях вивария в режиме естественной освещенности и вскармливания.

Для моделирования ОСБ использовали метод электрокожной стимуляции рецепторной зоны корня хвоста крысы прямоугольным импульсным током (частота — 60 Гц, амплитуда — 20–40 В, время воздействия — 2 минуты; длительность импульса — 0,05 секунды, задержка импульса — 0,5 секунды). Интенсивность болевого раздражения оценивали по характеру поведенческих и вегетативных реакций животного [4]. Через 2 минуты после электростимуляции крыс декапитировали и извлекали спинной мозг для дальнейшего биохимического анализа адреналина (А), норадреналина (НА) и дофамина (ДА) высокочувствительным флюорометрическим микрометодом определения в нервной ткани моноаминов [5]. Интенсивность

флюоресценции стандартных и опытных образцов измеряли на спектрофлюорометре MPF — 4 фирмы «Hitachi».

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента-Фишера при помощи программы «Stadia». Статистически достоверными считали отличия, соответствующие уровню значимости $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

В спинном мозге 2–4-х дневных самцов крыс выявлено высокое содержание катехоламинов (КА), основную долю которого составлял ДА (78,5%). У 17–18-дневных животных, при практически полной редукции А и тенденции к росту НА, концентрация ДА в спинном мозге уменьшалась втрое, а сумма КА (Σ КА) — в 2 раза по сравнению с периодом новорожденности. К месячному возрасту суммарное содержание КА в спинном мозге самцов крыс вновь увеличивалось на 50% относительно периода созревания, в основном, за счет А и НА. В КА-спектре спинного мозга 35-дневных крыс доминировал НА-компонент. У половозрелых самцов крыс Σ КА в спинном мозге была на 26% выше, чем у месячных животных; концентрация А и ДА увеличивалась, соответственно, в 8,13 и 1,8 раза, а НА обнаруживала тенденцию к снижению. В КА-спектре спинного мозга взрослых самцов доминировала фракция ДА, процентная доля которой в общей сумме КА составляла 60%. У старых крыс отмечалось достоверное снижение в спинном мозге всех КА: А — в 9,3, НА — в 3,7, ДА — в 2,8 раза. Спинальный пул КА у старых животных был меньше, чем у животных других возрастных групп; в нем доминировала ДА-фракция, процентное содержание которой достигало 71%. Возрастная динамика изменений спинального пула КА представлена на рис. 1.

Реактивные изменения в спинном мозге крыс разного возраста при острой соматической боли имели неоднозначный характер (см. таблицу). У новорожденных крыс ОСБ сопровождалась достоверным ростом НА и ДА в спинном мозге, соответственно, в 2 и 1,4 раза; общая концентрация КА увеличивалась на 56%. У 18-дневных животных при болевом воздействии, на фоне достоверного гиперА-ДА-сдвига в спинном мозге, вдвое снижалась концентрация НА, при этом Σ КА не отличалась от соответствующего уровня в контроле. У 35-дневных самцов боль сопровождалась выраженной редукцией спинального пула КА за счет А и НА, концентрация ДА не изменялась по сравнению с контролем; снижение Σ КА составляло 35%. У половозрелых крыс, как и у животных препубертатного возраста, при боли отмечалось снижение Σ КА в спинном мозге, за счет А и ДА, тогда как концентрация НА практически

**Изменения отдельных фракций катехоламинов в спинном мозге крыс
разного возраста при острой соматической боли**

Возраст	Группа	Катехоламины (нг/мг)			
		А	НА	ДА	ΣКА
2–4 дневные	контроль	0,034±0,011	0,24±0,045	0,99±0,08	1,26±0,11
	боль	0,040±0,006	0,50±0,021*	1,42±0,07*	1,96±0,10*
17–18 дневные	контроль	0,006±0,0017#	0,33±0,03	0,33±0,03#	0,67±0,07#
	боль	0,018±0,004*	0,16±0,03*	0,53±0,06*	0,71±0,06
35 дневные	контроль	0,016±0,006	0,55±0,04#	0,42±0,04	0,99±0,08#
	боль	0,003±0,002*	0,16±0,02*	0,48±0,04	0,64±0,05*
3–4 мес.	контроль	0,13±0,02#	0,37±0,09	0,75±0,11#	1,25±0,07#
	боль	0,03±0,01*	0,43±0,04	0,5±0,04*	0,96±0,06*
Старше 2 лет	контроль	0,014±0,007#	0,10±0,04#	0,27±0,08#	0,38±0,04#
	боль	0,044±0,013*	0,30±0,04*	0,8±0,1*	1,14±0,08*

Примечание. * – различия достоверны по сравнению с контролем соответствующей возрастной группы ($p \leq 0,05$); # – различия достоверны по сравнению с предыдущим возрастным периодом ($p \leq 0,05$).

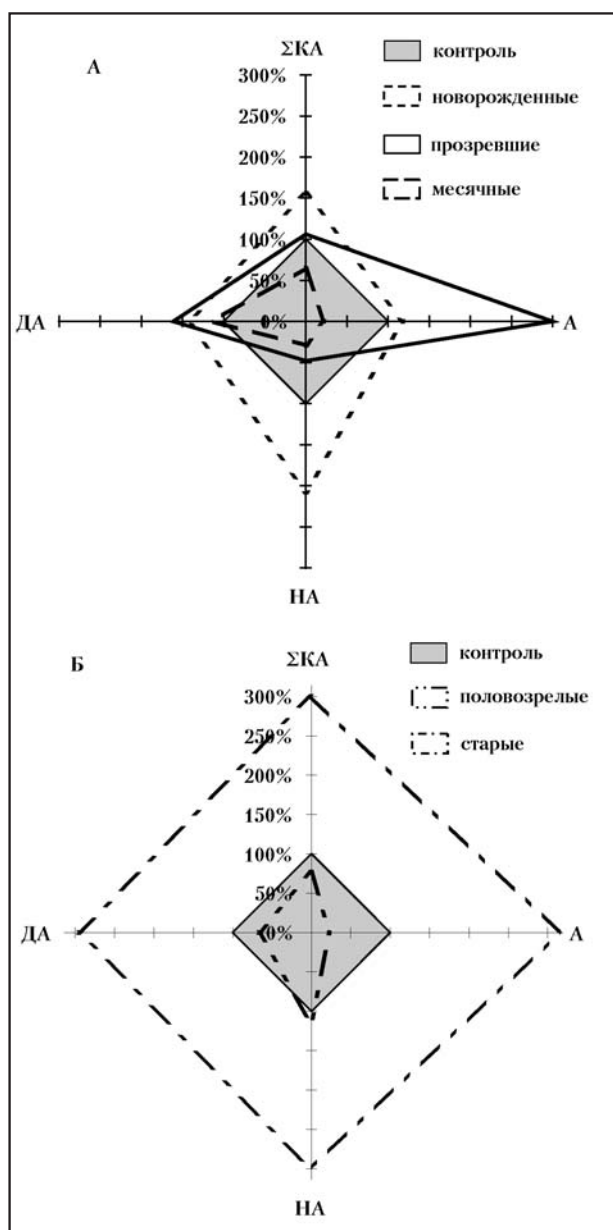


Рис. 2. Реактивные сдвиги КА в спинном мозге крыс разного возраста при острой соматической боли.

не отличалась от контрольного уровня. У старых животных ноцицептивное воздействие вызывало генерализованное 3-х кратное повышение спинальной концентрации всех фракций КА. У животных всех возрастных групп, кроме 3–4-месячных самцов при боли в КА-спектре спинного мозга усиливался ДА-компонент, составляя 70–79%. В КА-спектре спинного мозга молодых половозрелых самцов с ОСБ процентная доля ДА уменьшалась с 60 до 52%.

Известно, что возрастные изменения адренореактивности связаны с онтогенетическими закономерностями развития нервной системы и лежащими в их основе морфогенетическими и биохимическими механизмами. Выявленные в наших исследованиях фазные изменения спинального пула КА у крыс в ходе постнатального онтогенеза отражают основной принцип стадийности развития биологических систем с чередованием ростовых, дифференцировочных и инволюционных процессов.

Согласно литературным данным, высокий уровень КА в спинном мозге новорожденных крыс может быть следствием, с одной стороны, эндокринной активности растущих нейронов, секретирующих ДА в экстрацеллюлярное пространство и спинномозговую жидкость, с другой – несостоятельности гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), что способствует свободному проникновению адренемедуллярных КА в нервные структуры [6]. Эти же механизмы могут участвовать в формировании гиперКА-сдвига у новорожденных животных при ОСБ (рис. 2, А).

Снижение спинальной концентрации КА у интактных животных в период прозревания связано, вероятно, с «закрытием» ГЭБ. Регистрируемый гиперДА-эргический сдвиг в спинном мозге 18-дневных крыс с ОСБ (рис. 2, А) может обеспечиваться «корпоративным» синтезом ДА развивающимися нейронами, экспрессирующими один из ферментов катехоламиногенеза (L-тирозингидроксилазу или декарбоксилазу ароматических L-аминокислот). Установлено, что в раннем постнатальном периоде при экстремальных ситуациях количество моноферментных нейронов в мозге значительно возрастает [7, 8]. Снижение НА в этих условиях является следствием недостаточности его синтеза в результате незрелости ДА-β-гидроксилазной ферментативной системы.

В основе прогрессивного роста спинального пула КА у интактных животных препубертатного и половозрелого возраста лежат процессы цитодифференцировки ствольных ядер НА- и ДА-эргических нейронов, с формированием их нисходящих проекций и повышением активности ферментативных систем нейронального синтеза КА, прежде всего ДА- β -гидроксилазы [9]. Спинальная адренергическая реакция на боль у животных этих возрастных групп развивается по гипоэргическому типу с «минимизацией» А- и НА-компонентов у 35-дневных самцов и А- и ДА-компонентов у 3–4-месячных (рис. 2, А и Б). Учитывая важную роль НА-эргических механизмов в нисходящем контроле ноцицептивного потока на сегментарном уровне, можно полагать, что снижение спинальной концентрации НА при боли у 18-дневных и месячных крыс свидетельствует о низкой эффективности этого механизма у животных раннего возраста. Напротив, усиление НА-компонента в КА-спектре спинного мозга 3–4-месячных крыс с ОСБ подтверждает высокий уровень антиноцицептивной защиты у зрелых животных.

Снижение фонового уровня КА в СМ крыс в старческом возрасте связано с деструктивными процессами гибели нейронов, с функциональными изменениями в аппарате синаптической передачи (ослаблением аксоплазматического тока, обратного захвата медиаторов,

уменьшением количества рецепторов), с рассогласованием активности ферментативных систем, участвующих в синтезе и распаде КА [10, 11]. Адренергическая реакция на ОСБ у старых животных характеризуется высокой амплитудой реактивных сдвигов всех фракций КА (рис. 2, Б), что является следствием вышеназванных деструктивных изменений в ЦНС и отражает свойственный данному возрасту «экзальтационный» тип нервной деятельности.

Заключение

Возрастные изменения структуры спинальной адренергической реакции на ОСБ выявляют, на наш взгляд, разный уровень сенсомоторной интеграции в ноцицептивной системе на отдельных этапах постнатального онтогенеза. Высокая эффективность этих процессов у молодых животных обеспечивает экономизацию и качественную дифференциацию адренореактивных сдвигов при боли. Слабость интегративных процессов в ЦНС у животных в раннем постнатальном периоде и старческом возрасте способствует формированию генерализованных гиперКА-эргических реакций, которые могут явиться нейрохимическим субстратом возникновения генераторов патологически усиленного возбуждения при развитии болевых синдромов [12].

Литература

1. Овсянников В. Г. Очерки патофизиологии боли. Ростов-на-Дону: Изд.-во РГМУ; 2003.
2. Каложный Л. В. Физиологические механизмы регуляции болевой чувствительности. М.: Медицина; 1984.
3. Беляков В. А., Соловьев И. К. Ненаркотические анальгетики. Нижний Новгород: Нижегородская ярмарка; 2001.
4. Васильев Ю. Н., Игнатов Ю. Д., Качан А. Г., Богданов Н. Н. Анальгетический эффект акупунктуры у крыс в свободном поведении и его изменение под влиянием морфина и налоксона. Бюл. эксперим. биологии и медицины 1979; 11: 566–569.
5. Shlunph M., Lichensteiger W., Langemann H. et al. A fluorometric micromethod for the simultaneous determination of serotonin, norepinephrine and dopamine in microgram amounts of brain tissue. Biochem. Pharmacol. 1974; 23 (17): 2437–2446.
6. Угрюмов М. В. Мозг в роли эндокринной железы во взрослом и развивающемся организме. Рос. физиологический журн. им. И. М. Сеченова 2004; 90 (5): 625–637.
7. Balans I. S., Ugrumov M. V., Calas A. et al. Tyrosine hydroxylase and/or aromatic L-aminoacid decarboxylase-expressing neurons in the mediobasal hypothalamus of perinatal rats. Differentiation and sexual dimorphism. J. comp. neurol. 2000; 425: 167–176.
8. Borisova N. A., Sapronova A. I., Proshlaykova E. V., Ugrumov M. V. Ontogenesis of the hypothalamic catecholaminergic system in rats. Synthesis, uptake and release of catecholamines. Neurosci. 1991; 43: 223–229.
9. Ажипа Я. И. Трофическая функция нервной системы (руководство по физиологии). М.: Наука; 1990.
10. Попова Э. Н., Вербицкая Л. Б., Кукуев Л. А. Морфологические изменения структур мозга человека и животных при старении. Журн. невропатологии и психиатрии им. С. С. Корсакова 1986; 86 (12): 1860–1868.
11. Brizze K. R. Neuron aging and neuron pathology. Relat between norm aging and disease. Symp. Amer. aging assoc. 1982, N. Y.; 1985: 191–224.
12. Кукушкин М. Л., Хитров Н. К. Общая патология боли. М.: Медицина; 2004.

Поступила 02.04.07