

РЕАКТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕЙРОНОВ БОЛЬШОГО СЕРТОНИНЕРГИЧЕСКОГО ЯДРА ШВА ПОСЛЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО СТРЕССА В НОВОРОЖДЕННОМ ПЕРИОДЕ И ТЕРАПИИ БУСПИРОНОМ

© А. В. Дробленков¹, А. В. Пивнев¹, В. А. Пыжов¹, И. П. Буткевич², В. А. Михайленко², Т. Н. Шимараева¹

¹ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России;

²ФГБУ «Институт физиологии им. И. П. Павлова» Российской академии наук, Санкт-Петербург

Резюме. Работа посвящена выявлению реактивных изменений нейронов большого ядра шва после экспериментального стресса в новорожденном периоде, знание которых необходимо для более глубокого понимания механизмов повреждения и адаптации серотонинергической системы головного мозга в процессе постнатального развития. Известно, что большое ядро шва является наиболее крупным источником серотонинергических нервных волокон, благодаря которым устанавливается связь с гипоталамусом и другими проекционными центрами системы «положительно-го подкрепления». Изучение реактивных изменений нейронов большого ядра шва после экспериментального стресса в новорожденном периоде необходимо для более глубокого понимания механизмов повреждения и адаптации серотонинергической системы головного мозга в процессе постнатального развития, а также для возможной коррекции поведенческих нарушений. У 37-дневных крыс после инъекции буспилона (подопытные животные) и у контрольных (с инъекцией физиологического раствора) исследовали болевой ответ в формалиновом тесте (инъекция 2,5%-го раствора формалина 1,0 мл в подошву задней конечности). В срезах крупноклеточного ядра шва, окрашенных методом Ниссля, подсчитывали количество неизмененных, гипохромных, сморщенных гиперхромных и тeneвидных клеток, устанавливали площадь малоизмененных нейронов. Определяли также расстояние между телами нейронов, а также между телами глиоцитов и телами нейронов. Установлено, что после моделирования стресса в большом ядре шва развиваются дегенеративные и компенсаторно-приспособительные изменения. Первые выражаются сокращением доли и уменьшением площади малоизмененных нейронов, сморщиванием и гиперхромией, гипохромией, ростом удельного количества тeneвидных форм. Вторые выражаются признаками активации глио-нейрональных и межнейрональных взаимоотношений. Многие реактивные изменения клеток подвержены компенсационной коррекции препаратом, блокирующим рецепторы к серотонину.

Ключевые слова: изменения нейронов; нейроглияльные взаимоотношения; стресс; ядра шва.

REACTIVE CHANGES IN NEURONS OF THE RAPHE SEROTONERGIC OM NUCLEUS OF AFTER EXPERIMENTAL STRESS IN THE NEONATE PERIOD AND BUSPIRONE THERAPY

© A. V. Droblenkov¹, A. V. Pivnev¹, V. A. Pyzhov¹, I. P. Butkevich², V. A. Mikhaylenko², T. N. Shimaraeva¹

¹Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Russia;

²Pavlov Institute of Physiology of RAS, Saint Petersburg, Russia

Abstract. The identification of the raphe nucleus neurons reactive changes after experimental stress in the newborn period is necessary for a better understanding of the mechanisms of damage and adaptation of the serotonergic system in the brain during postnatal development. It is well known that the raphe serotonergic nucleus is the largest source of serotonergic nerve fibers through which the connection with the hypothalamus and other projection centers of "positive reinforcement system". The study of reactive changes raphe nucleus neurons after experimental stress in the newborn period is necessary for a better understanding of the mechanisms of damage and adaptation of the serotonergic system in the brain during postnatal development as well as for possible correction of behavioral disorders. In 37 day old rats after injection of buspirone (experimental animals) and control (injected with physiologists cal solution) studied pain response in the formalin test (2.5 % injection solution of formalin in 1.0 l of a sole of the hind limb). In sections macrocellular raphe nuclei stained by Nissl, counted the number of unmodified, hypochromic, shrunken and hyperchromatic, shadowly cells, established area little changed neurons. Measured as the distance between the bodies of neurons and glial cells between the bodies and the bodies of neurons. It was found that after the simulation of stress in a large raphe nucleus neurons developing degenerative and compensatory-adaptive changes. Reduces the number and size of bodies of neurons containing substance Nissl, wrinkling occurs, strengthening and weakening of staining, the growth of the share of shadowly neurons. Also activated glioneuronal and interneuronal relationships. Reactive changes in the cells exposed to the compensation correction drugs that block receptors for serotonin.

Key words: neurons changes; neuroglial relationships; stress; raphe nuclei.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Известно, что большое ядро шва является наиболее крупным источником серотонинергических нервных волокон, благодаря которым устанавливается связь с гипоталамусом и другими проекционными центрами системы «положительного подкрепления». Изучение реактивных изменений нейронов большого ядра шва после экспериментального стресса в новорожденном периоде необходимо для более глубокого понимания механизмов повреждения и адаптации серотонинергической системы головного мозга в процессе постнатального развития, а также для возможной коррекции поведенческих нарушений. Серотонинергические рецепторы типа 1A (5-HT_{1A}), интенсивно представленные в ядрах шва и префронтальной коре, участвуют в обработке ноцицептивных сигналов и в психоэмоциональном поведении [2, 3]. Агонист 5-HT_{1A}, буспирон, использован в настоящей работе в препубертатный период развития для возможной коррекции последствий болевого стресса новорожденных. Ранее нами впервые было обнаружено, что хроническая инъекция буспилона самкам до стресса в период беременности нормализовала у потомства болевой ответ при воспалении и психоэмоциональное поведение, нарушение которых вызывает пренатальный стресс [1].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Исследовать влияние хронического введения буспилона в препубертатный период развития (24–36 дни) у самцов крыс, подвергнутых в новорожденном состоянии болевому воздействию при воспалении, на функциональную активность тонической ноцицептивной системы в условиях формалинового теста и на реактивные изменения нейронов большого серотонинергического ядра шва.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Новорожденные самцы крысята были подвергнуты болевому воздействию (0,5 мкл 2,5%-го раствора формалина в подошву задней конечности) последовательно в первый и второй дни жизни, контроль — крысята без воздействий. Предварительные данные при исследовании крыс с инъекцией физиологического раствора в новорожденном периоде показали отсутствие изменений в болевой чувствительности при достижении животными препубертатного периода развития (при сравнении с контрольными крысами без инъекций), поэтому в качестве контроля использованы крысы без воздействий. Внутривентрикулярные инъекции буспилона (3,0 мг/кг, 100 мкл) осуществляли с 24-го по 36-й постнатальные дни. У 37-дневных крыс после инъекции

буспилона (подопытные животные) и у контрольных (с инъекцией физиологического раствора) исследовали болевой ответ в формалиновом тесте (инъекция 2,5%-го раствора формалина 1,0 мкл в подошву задней конечности). Регистрировали продолжительность вылизывания инъекционной конечности (с) у контрольных и подопытных крыс. Каждая группа животных состояла из 8 особей. После завершения экспериментов у подопытных и контрольных крыс декапитацией вынимали мозг и погружали в формалин. Статистический анализ проводили с применением критерия Стьюдента и критерия Манна–Уитни. Данные представлены в виде среднего ± стандартная ошибка. Принятый уровень значимости составил 5%.

После окрашивания фронтальных срезов крупноклеточного ядра шва по Нисслю на площади 0,01 мм² у каждой особи (n, общее количество подсчетов = 12) определяли фенотип нейронов согласно классификации Ю.М. Жаботинского. Раздельно подсчитывали количество неизмененных, гипохромных, сморщенных гиперхромных и теневидных клеток, устанавливали площадь малоизмененных нейронов. Определяли также расстояние между телами нейронов и между телами глиоцитов и телами нейронов. Морфометрию проводили с помощью программы Imagescope (Russia). Различия средней величины и ее ошибки считали значимыми при $p < 0,05$.

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

В поведенческих экспериментах у подопытных самцов препубертатного периода, которых подвергали болевому стрессу, вызванному очагом воспаления в первые два дня жизни, обнаружено увеличение продолжительности вылизывания в формалиновом тесте по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Хроническая инъекция буспилона нормализовала продолжительность вылизывания, поведенческую реакцию, организованную на супраспинальном уровне ($p < 0,05$).

В морфологическом исследовании установлено (рис. 1), что после моделирования болевого стресса в большом ядре шва развиваются дегенеративные и компенсаторно-приспособительные изменения. Первые выражаются сокращением доли и уменьшением площади малоизмененных нейронов, сморщиванием и гиперхромией, гипохромией, ростом удельного количества теневидных форм. Вторые выражаются признаками активации глио-нейрональных и межнейрональных взаимоотношений. Многие реактивные изменения клеток подвержены компенсационной коррекции препаратом буспилоном, который является агонистом 5-HT_{1A} рецепторов.

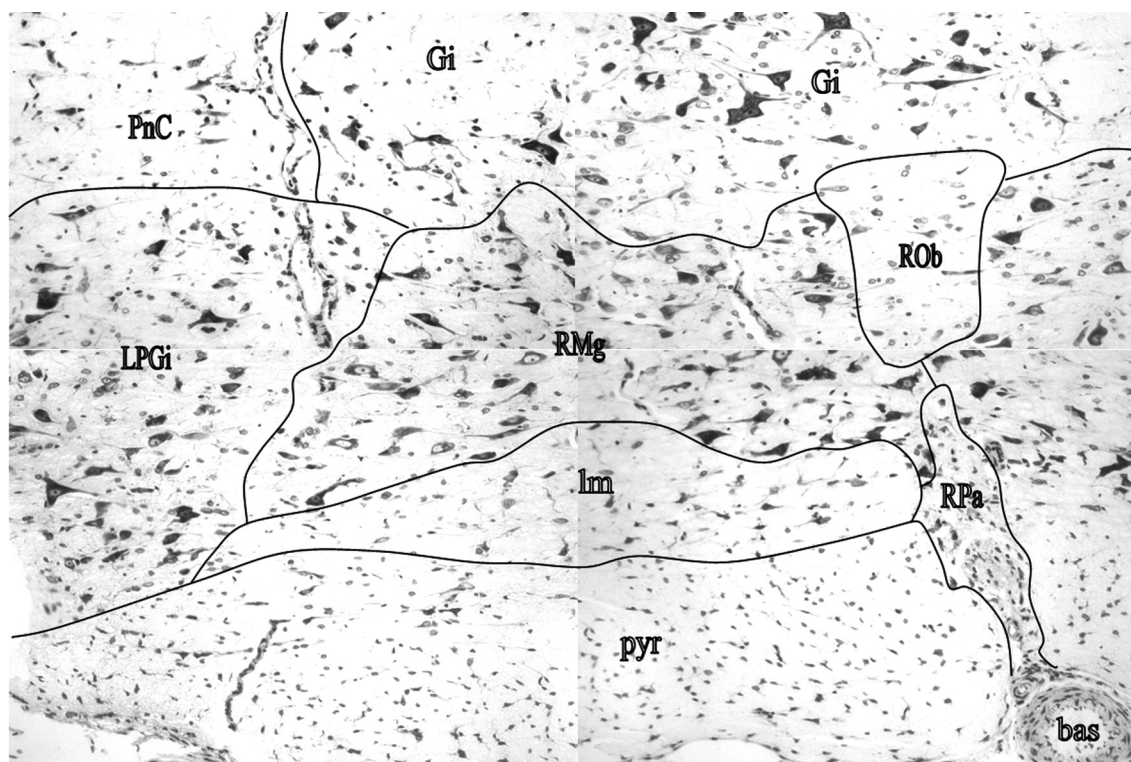


Рис. 1. Ядра ромбовидного мозга интактной крысы: Gi — гигантоклеточное ретикулярное, LPGi — латеральное парагигантоклеточное, PnC — ретикулярное мостовое, каудальная часть, RMg — шва, большое, ROb — шва, RPa — шва, бледное. Другие обозначения: bas — основная артерия, lm — медиальная петля, pyr — пирамида. Окраска методом Ниссля. Ок. 10, об. 20

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, болевой стресс, вызванный воспалительным агентом в период новорожденности, проявился при достижении животными препубертатного периода развития в гипералгезии в условиях повторно вызванного очага воспаления в формалиновом тесте. Хроническая инъекция буспилона в течение двух недель до формалинового теста нормализовала болевую чувствительность тонической ноцицептивной системы. Установлено, что поведенческие изменения сочетаются с полученными результатами морфофункционального исследования большого ядра шва, вовлеченного в нисходящую серотонинергическую систему, осуществляющую модуляцию ноцицептивных сигналов на уровне задних рогов спинного мозга и имеющую нейроанатомические связи с префронтальной корой, вовлеченной в психоэмоциональное поведение.

ЛИТЕРАТУРА

1. Буткевич И.П., Шимараева Т.Н., Михайленко В.А. Пренатальные влияния буспилона и стресса на поведенческие реакции у разнополых крыс в период онтогенеза с пониженным уровнем мозгового серотонина. Педиатр. 2014; 5 (1): 90–96.

2. Bernasconia F., Kometera M., Pokornya T., Seifritzb E., Vollenweidera F.X. The electrophysiological effects of the serotonin 1A receptor agonist bupirone in emotional face processing. *Europ. Neuropsychopharmacology*. 2015. In press.
3. Huo F.Q., Huang F.S., Ly B.C., Chen T., Feng J., Qu C.L., Tang J.S., Li Y.Q. Activation of serotonin 1A receptors in ventrolateral orbital cortex depresses persistent nociception: a presynaptic inhibition mechanism. *Neurochem. Int.* 2010; 57 (7): 749–755.

REFERENCES

1. Butkevich I.P., Shimaraeva T.N., Mihailenko V.A. Prenatal'nye vliyaniya bupirone i stressa na povedencheskie reaktsii u raznopol'nykh krysyat v period ontogeneza s ponizhennym urovnem mozgovogo serotoninina [Prenatal stress and the effect of bupirone on behavioral reactions in rats of different sexes during ontogenesis with reduced levels of brain serotonin]. *Pediatr.* 2014; 5 (1): 90–96. (in Russia).
2. Bernasconia F., Kometera M., Pokornya T., Seifritzb E., Vollenweidera F.X. The electrophysiological effects of the serotonin 1A receptor agonist bupirone in emotional face processing. *Europ. Neuropsychopharmacology*. 2015. In press.

3. Huo F.Q., Huang F.S., Ly B.C., Chen T., Feng J., Qu C.L., Tang J.S., Li Y.Q. Activation of serotonin 1A receptors in ventrolateral orbital cortex de-

presses persistent nociception: a presynaptic inhibition mechanism. *Neurochem. Int.* 2010; 57 (7): 749–755.

◆ Информация об авторах

Дробленков Андрей Всеволодович — д-р мед. наук, доцент, кафедра гистологии и эмбриологии. ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России. 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2. E-mail: Droblenkov_a@mail.ru.

Droblenkov Andrey Vsevolodovich — MD, PhD, Dr Med Sci, Associate Professor. Department of Histology and Embryology. St. Petersburg State Pediatric Medical University. 2, Litovskaya St., St. Petersburg, 194100, Russia. E-mail: Droblenkov_a@mail.ru.

Пивнев Александр Владимирович — студент 3-го курса, член СНО кафедры гистологии и эмбриологии имени профессора А.Г. Кнорре и кафедры нормальной физиологии. ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России. 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2. E-mail: a.v.pivnev@gmail.com.

Pivnev Alexandr Vladimirovich — student. Department of Histology and Embryology. St. Petersburg State Pediatric Medical University. 2, Litovskaya St., St. Petersburg, 194100, Russia. E-mail: a.v.pivnev@gmail.com.

Пыжов Василий Анатольевич — студент 3-го курса, член СНО кафедры гистологии и эмбриологии имени профессора А.Г. Кнорре и кафедры нормальной физиологии. ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России. 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2. E-mail: vasilii-pyzhov@ya.ru.

Pyzhov Vasilii Alexandrovich — student. Department of Obstetrics and Gynecology. St. Petersburg State Pediatric Medical University. 2, Litovskaya St., St. Petersburg, 194100, Russia. E-mail: vasilii-pyzhov@ya.ru.

Буткевич Ирина Павловна — д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория онтогенеза нервной системы. ФГБУ «Институт физиологии им. И.П. Павлова» Российской Академии Наук. 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6. E-mail: Droblenkov_a@mail.ru.

Butkevich Irina Pavlovna — Шабанов PhD, Leading Scientist. Laboratory of the Nervous System Ontogenesis and Embryology. Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences. 6, Makarova nab., St. Petersburg, 199034, Russia. E-mail: Droblenkov_a@mail.ru.

Михайленко Виктор Анатольевич — д-р биол. наук, старший научный сотрудник, лаборатория онтогенеза нервной системы. ФГБУ «Институт физиологии им. И.П. Павлова» Российской Академии Наук. 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6. E-mail: Droblenkov_a@mail.ru.

Mikhailenko Viktor Anatol'evich — PhD, Senior Researcher. Laboratory of the Nervous System Ontogenesis and Embryology. Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences. 6, Makarova nab., St. Petersburg, 199034, Russia. E-mail: Droblenkov_a@mail.ru.

Шимараева Татьяна Николаевна — канд. мед. наук, доцент, кафедра нормальной физиологии. ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России. 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2. E-mail: Droblenkov_a@mail.ru.

Shimaraeva Tat'yana Nikolaevna — MD, PhD, Associate Professor. Department of Human Physiology. St. Petersburg State Pediatric Medical University. 2, Litovskaya St., St. Petersburg, 194100, Russia. E-mail: Droblenkov_a@mail.ru.