

ПОСТКОЛИТНЫЕ ПЕРЕСТРОЙКИ В НОЦИЦЕПТИВНЫХ СВОЙСТВАХ НЕЙРОНОВ БОЛЬШОГО И ДОРСАЛЬНОГО ЯДЕР ШВА КРЫСЫ

© 2023 г. Б. М. Сушкевич¹, И. Б. Сиваченко¹, О. А. Любашина^{1,*}

¹Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: lyubashinaoa@infran.ru

Поступила в редакцию 27.04.2023 г.

После доработки 06.06.2023 г.

Принята к публикации 07.06.2023 г.

Нарушениям в серотонинергической системе головного мозга отводят ведущую роль в патогенезе хронической абдоминальной боли и коморбидных ей соматических гипералгезий, которые беспокоят значительную часть пациентов с заболеваниями пищеварительного тракта, даже в состоянии ремиссии. Однако конкретные изменения в ноцицептивных свойствах серотонинергических структур, которые могут быть инициированы органической патологией и сохраняться после ее разрешения, остаются неясными. Целью проведенных нами нейрофизиологических экспериментов на анестезированных крысах, здоровых и перенесших колит, являлось выявление сохраняющихся после разрешения кишечного воспаления перестроек в нейрональных реакциях большого (БЯШ) и дорсального (ДЯШ) ядер шва на висцеральное (колоректальное растяжение) и соматическое (сдавливание хвоста) болевые раздражения. Установлено, что оба ядра содержат разные группы ноцицептивных нейронов: 1) отвечающие активацией только на колоректальное растяжение (висцеральные); 2) возбуждающиеся только при сдавливании хвоста (соматические); 3) реагирующие возбуждением на оба раздражения (общие); 4) отвечающие на любую из стимуляций торможением разрядов (тормозящиеся). По сравнению со здоровыми животными, в БЯШ крыс, перенесших колит, было повышено количество тормозящихся клеток и снижена общая доля возбуждающихся ноцицептивных нейронов. Растяжение перенесшей воспаление кишки вызывало в БЯШ усиленное нейрональное торможение, тогда как сдавливание незатронутого патологией хвоста приводило к повышенному возбуждению его селективных соматических и общих ноцицептивных клеток. В свою очередь, в ДЯШ постколитных крыс доля тормозящихся нейронов была снижена, а в взрослой популяции возбуждающихся было меньше висцеральных и больше соматических ноцицептивных клеток. Это сопровождалось усилением избирательных реакций последних на соматические болевые стимулы и возрастанием неселективного возбуждения нейронов ДЯШ в ответ на висцеральные и соматические болевые сигналы. Выявленные нейрональные перестройки могут способствовать постколитному нарушению функций изученных ядер шва в эндогенном контроле висцеральной и соматической болевых чувствительностей.

Ключевые слова: большое ядро шва, дорсальное ядро шва, нейрональная активность, абдоминальная боль, соматическая боль, постколитный период

DOI: 10.31857/S004445292304006X, EDN: KXJGYA

ВВЕДЕНИЕ

Абдоминальная боль является одним из ведущих симптомов достаточно распространенных в настоящее время функциональных (синдром раздраженной кишки) и воспалительных (болезнь Крона, язвенный колит) заболеваний пищеварительного тракта [1–5]. По мнению большинства специалистов ведущей причиной возникновения абдоминальной боли при этих патологиях является висцеральная гиперчувствительность, т.е. повышенная чувствительность к внутрикишечным раздражителям разного рода, вследствие которой даже нормальные, физиологические стимулы воспринимаются как болевые [1, 2, 6, 7]. Развитие этого состояния в значительной мере связывают с нару-

шением серотонин-зависимых процессов обработки болевых сигналов в системе кишка–головной мозг [8–10].

При этом имеющиеся клинические и экспериментальные данные свидетельствуют о существенном вовлечении в патогенез функциональных и воспалительных заболеваний кишки серотонинергической системы головного мозга. В частности, на перестройки в данной системе указывают наблюдающиеся при этих патологиях изменения метаболизма серотонина в разных церебральных структурах. Так, в клиническом исследовании показано, что у женщин с синдромом раздраженной кишки (СРК) уровень синтеза серотонина в правой медиальной височной извилине (мультимодалная сен-

сорная ассоциативная кора) выше, чем у здоровых женщин [11]. В свою очередь у крыс в модели СРК, развивающегося вследствие неонатального отделения от матери, было продемонстрировано более высокое по сравнению с контрольными животными соотношение 5-гидроксииндолуксусная кислота/серотонин (т.е. более активный оборот серотонина) в стволе мозга [12]. Однако указанные выше сведения были получены безотносительно их связи с изменениями в уровне висцеральной ноцицепции. Между тем другими авторами было доказано, что кишечная гиперчувствительность, наблюдающаяся у неонатально отделенных от матери животных, ассоциирована с повышенными уровнями экспрессии серотонина и триптофан-гидроксилазы, а также увеличенным количеством активирующихся в ответ на болевое колоректальное растяжение серотонинергических нейронов в дорсальном ядре шва [13, 14].

Наряду с этим при висцеральной гиперчувствительности, сопровождающей текущее кишечное воспаление у крыс, были отмечены усиленные продукции *c-fos* белков и провоспалительных цитокинов в большом и дорсальном ядрах шва [15–17], а также облегченная активация нейронов большого ядра шва висцеральными и соматическими болевыми стимулами [18]. У животных с поствоспалительной кишечной гиперчувствительностью наблюдались повышенные уровни экспрессии серотонина, его 5-НТ_{2A} и 5-НТ₇ рецепторов, а также снижение продукции серотонинового транспортера (SERT) в гипоталамусе [19]. Эти данные свидетельствуют о вызываемых органической патологией нейропластических перестройках в серотонинергической системе мозга, которые могут приводить к долгосрочным изменениям в процессах контроля ее структурами не только висцеральной, но и соматической болевой трансмиссии. Однако как обеспечивающие такие процессы нейрофизиологические механизмы, так и изменения в них, которые могут способствовать развитию висцеральной и соматической гиперчувствительностей, до сих пор остаются неясными.

Ключевыми серотонинергическими структурами, вовлеченными в супраспинальные механизмы болевой чувствительности, являются большое и дорсальное ядра шва [20–22]. Их прямые или опосредованные нижележащими стволовыми структурами проекции к задним рогам спинного мозга контролируют спинальную ноцицептивную трансмиссию [21–24]. С другой стороны, пути от дорсального ядра шва к таламусу, лимбическим субкортикальным и кортикальным структурам способны модулировать перцептуальный, эмоционально-аффективный и когнитивный компоненты системной реакции организма на боль [22, 25]. В свою очередь, болевая информация из разных областей тела, которая поступает в большое и дорсальное ядра шва непосредственно по

спиноретикулярному и спиноталамическому трактам, а также опосредованно через парабрахияльный комплекс моста, определяет уровень функциональной активности этих структур, необходимой для реализации их анти- или проноцицептивных влияний [26–28]. Нарушение нейрональных процессов обработки болевых сигналов в этих ядрах связывают с дисфункцией центральных механизмов контроля болевой чувствительности и считают одной из причин развития хронических болевых синдромов [28–30]. Однако степень выраженности и характер изменений в ноцицептивных свойствах нейронов большого и дорсального ядер шва, которые могут быть инициированы кишечным воспалением и сохраняться после него, являются практически неисследованными. Это существенно сдерживает разработку эффективных методов лечения хронической абдоминальной боли и коморбидных ей соматических гипералгезий, от которых страдает значительная часть пациентов с воспалительными заболеваниями кишки в стадии ремиссии и пациентов с СРК поствоспалительного генеза.

Поэтому целью проведенных нами нейрофизиологических экспериментов на анестезированных крысах являлось выявление инициированных колитом перестроек в нейрональных реакциях большого (БЯШ) и дорсального (ДЯШ) ядер шва на висцеральные и соматические болевые сигналы, которые сохраняются после разрешения кишечного воспаления.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на 38 взрослых самцах крыс линии Вистар (Wistar) с массой тела от 280 до 360 г, полученных из Коллекции лабораторных млекопитающих разной таксономической принадлежности Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. Все экспериментальные процедуры соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям Комиссии по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных при Институте физиологии им. И.П. Павлова РАН.

Эксперименты проводили на двух группах крыс: с исходно интактной толстой кишкой (здоровый контроль, 20 животных) и перенесших экспериментальный колит (18 особей). Колит инициировали по методу Morris и соавт. [31]. Для этого с использованием приемов, которые были подробно описаны ранее [32–34], в ободочную кишку животного при помощи инсулинового шприца, снабженного 7-сантиметровым полиэтиленовым катетером, трансректально вводили спиртовой раствор пикрилсульфониевой кислоты (TNBS, Sigma-Aldrich, США; 20 мг в 0.25 мл 50% раствора этанола). Опыты начинали через 29–45 дней после инъекции, в период полного исчезновения внешних

признаков кишечного воспаления (плохой аппетит, размягченный или жидкий стул, потеря веса).

Животных контрольной и экспериментальной групп после 16-часовой пищевой депривации со свободным доступом к воде анестезировали внутривенным введением смеси уретана (800 мг/кг; Sigma-Aldrich, США) и альфа-хлоралозы (60 мг/кг; ICN Biomedicals, США). После достижения хирургического уровня анестезии в бедренные артерии и вену устанавливали катетеры для регистрации артериального давления с помощью полупроводникового датчика MLT0670 (ADInstruments, Великобритания) и дополнительного внутривенного введения анестезирующей смеси (в случае необходимости). Для облегчения процесса дыхания в условиях эксперимента производили трахеостомию с помощью полиэтиленовой трубки. После этого голову крысы закрепляли в стереотаксическом приборе (Медикор, Венгрия). Посредством рассечения мягких тканей обеспечивали доступ к дорсальной поверхности черепа в области брегмы, сагиттального шва и межтеменной кости. Затем с помощью портативной стоматологической бормашины (БЭБП-3, Россия) аккуратно, не задевая верхний сагиттальный и поперечный венозные синусы, просверливали отверстие в зоне проекции на кости черепа БЯШ или ДЯШ согласно стандартному атласу мозга крысы [35]. На одном животном исследовали нейрональную активность только одного ядра шва. Отверстие для доступа к БЯШ было локализовано в левой части межтеменной кости от 8.0 до 12.0 мм каудальнее брегмы и от 0.0 до 2.0 мм латеральнее средней линии. Отверстие для доступа к ДЯШ выполнялось в левой теменной кости 7.0–9.0 мм каудальнее брегмы и 0.2–2.0 мм латеральнее средней линии. Подлежащую твердую мозговую оболочку аккуратно, стараясь не повредить венозные синусы, надсекали. Открытую ткань мозга смачивали теплым физиологическим раствором. Показателем адекватности анестезии в ходе эксперимента служила стабильность уровня системного артериального давления. В случае существенных колебаний или повышения этого показателя в отсутствие каких-либо стимуляционных воздействий осуществляли дополнительное внутривенное введение анестезирующей смеси. Температуру тела животного контролировали ректально и поддерживали в пределах 37.0–38.0°C при помощи подогревающей пластины и водяного термостата (U-10, Германия).

Внеклеточную регистрацию нейрональной активности ядер шва производили вольфрамовыми микроэлектродами с диаметром кончика 1 мкм и сопротивлением в 1 МОм (World Precision Instruments, США). Стальной игльчатый индифферентный электрод закрепляли в контралатеральной височной мышце. В области БЯШ регистрирующий микроэлектрод локализовали в зоне, расположенной 9.5–11.6 мм каудальнее брегмы и 0.0–0.6 мм латеральнее средней линии на глубине 9.6–10.2 мм от

поверхности мозга. Для регистрации нейронов в области ДЯШ микроэлектрод погружали в зону, расположенную 7.6–8.7 мм каудальнее брегмы и 0.2–0.8 мм латеральнее средней линии на глубине 6.0–6.7 мм от поверхности мозга. Поиск нейронов в исследуемых структурах осуществляли посредством вертикального перемещения микроэлектрода с шагом в 4 мкм при помощи электронного погружающего устройства (МП-2, Россия). Регистрируемые сигналы импульсной активности нейронов после усиления и фильтрации в диапазоне частот 400–5000 Гц (DAM 80, WPI, США) подавали на вход звуковой карты компьютера, визуализировали и сохраняли посредством программы Audition 3 (Adobe Corp, США).

В качестве висцерального болевого раздражения применяли растяжение колоректальной области толстой кишки с помощью резинового баллона длиной 7 см, раздуваемого воздухом до давления 80 мм рт.ст. с использованием автоматического шприцевого насоса (ДШ-09, Висма-Планар, Беларусь). Соматическая болевая стимуляция заключалась в механическом сдавливании хвоста животного с помощью сенсорного пинцета (нагрузка 650–900 г), контролируемого алгезиметром BIO-RP-R (Bioseb SAS, Франция). Показателем ноцицептивного характера раздражений являлось вызываемое ими изменение уровня системного артериального давления. Запись нейрональных реакций на определенное болевое воздействие производили на трехминутном интервале: 60 сек до стимуляции (фоновый показатель), 30 сек во время колоректального растяжения или сдавливания хвоста и 90 сек после них. Интервал между соседними раздражениями составлял не менее 3 мин. У каждого животного регистрацию производили в 7–15 точках локализации кончика микроэлектрода, отстоящих друг от друга не менее, чем на 150 мкм. Последующий анализ записей с селекцией нейрональных разрядов по форме выполняли в программе Spike 2 (CED, Великобритания). В каждой записи было выделено от 3 до 10 импульсных последовательностей. Для разных импульсных потоков определяли среднюю частоту разрядов в секунду на последовательных временных интервалах до, в период болевого раздражения и после него. Нейроны считали отвечающими на ноцицептивную стимуляцию, если частота их разрядов во время раздражения изменялась по отношению к ее фоновому уровню не менее чем на 15%.

По окончании каждого эксперимента осуществляли эвтаназию животного путем внутривенного введения трехкратной дозы анестезирующей смеси и выполняли электролитическое разрушение ткани мозга посредством пропускания через регистрирующий электрод постоянного тока отрицательной полярности силой 0.5–1.2 мА в течение 40 с. Локализацию мест регистрации производили на обработанных стандартными гистологическими

методами (метод Ниссля) срезах мозга толщиной 40 мкм с использованием атласа мозга крысы [35]. В случае локализации кончика регистрирующего микроэлектрода за пределы границ исследуемых структур результаты нейрофизиологического исследования данного животного были исключены из дальнейшего анализа. По завершении каждого опыта у здоровых крыс и животных, перенесших колит, был осуществлен забор фрагмента толстой кишки длиной 8 см от анального отверстия для визуального анализа и последующего окрашивания (эозин и гематоксилин) с целью исключения спонтанной патологии у животных, отнесенных к группе здоровых, и контроля состояния кишки у крыс постколитной группы.

Статистическую обработку, сравнение и графическое оформление результатов, полученных в разных ядрах шва у контрольных и перенесших кишечное воспаление животных, производили с помощью программных пакетов Origin 2017 (OriginLab, США) и GraphPad InStat 3.02 (GraphPad Software, США). Статистический анализ данных, характеризующих внутригрупповые изменения в нейрональной активности, осуществляли с использованием непараметрических методов для парных или зависимых измерений (тест Фридмана и парный тест Вилкоксона). Для межгрупповых сравнений применяли непараметрические тесты для непарных или независимых измерений (тесты Краскела–Уоллиса и Манна–Уитни–Вилкоксона). Применение непараметрических тестов было связано с отклонением анализируемых выборок от нормального распределения (тест Шапиро–Уилка). Данные представлены как медиана [25-й процентиль; 75-й процентиль]. Для сравнения количественного содержания нейронов различного типа между исследуемыми ядрами шва у контрольных животных и крыс, перенесших колит, использовали критерий Хи-квадрат (для сравнения частоты признака, имеющего три и более значений) и точный тест Фишера (для сравнения частоты признака, имеющего два значения). Во всех случаях различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У 10 здоровых крыс и 9 животных, перенесших колит, нейрональная активность была зарегистрирована в левой части БЯШ (рис. 1а). У такого же количества крыс из контрольной и постколитной групп изученные нейроны были локализованы в ДЯШ, преимущественно в его левой вентролатеральной области (рис. 1б). Во время острого течения колита (на 7-й день после внутрикишечного введения спиртового раствора пикрилсульфоневой кислоты) животные экспериментальной группы демонстрировали сниженный аппетит, диарею и существенную потерю веса (на 22.2 [20.0; 27.1]% от исходного; $p < 0.001$, парный тест Вилкоксона).

Однако ко дню проведения эксперимента (29–45 дней после внутрикишечного введения) их общее состояние и вес не отличались от таковых у здоровых животных (для веса: 330 [310; 350] г, $n = 19$ vs. 318 [290; 340] г, $n = 20$; $p = 0.14$, $U = 128.5$, тест Манна–Уитни–Вилкоксона). Макроскопическое и микроскопические исследования толстой кишки постколитных животных не выявили в ней визуально выраженных повреждений.

Ноцицептивная активность нейронов большого и дорсального ядер шва в норме

В группе здоровых животных была изучена активность 589 нейронов БЯШ и 1153 нейронов ДЯШ. Из них 485 (83.3%) клеток в БЯШ и 1020 (88.5%) нейронов ДЯШ демонстрировали существенное усиление или торможение своей импульсной активности (для разных реакций: $p < 0.001$, парный тест Вилкоксона) в ответ на висцеральную и/или соматическую болевые стимуляции. Остальные 104 (17.7%) клетки в БЯШ и 133 (11.5%) нейрона в ДЯШ не изменяли частоту разрядов во время применяемых болевых раздражений (во всех случаях: $p > 0.05$, парный тест Вилкоксона). Доля таких клеток в БЯШ была существенно больше, чем в ДЯШ ($p < 0.001$, точный тест Фишера). Они рассматривались как индифферентные к ноцицепции и были исключены из дальнейшего анализа.

Среди реагирующих на болевые воздействия нейронов в обоих ядрах были выделены четыре группы: 1) возбуждающиеся только при висцеральной болевой стимуляции (висцеральные ноцицептивные); 2) отвечающие усилением активности только на соматический болевой стимул (соматические ноцицептивные); 3) реагирующие возбуждением на оба болевых раздражения (общие ноцицептивные); 4) тормозящие свою импульсную активность при любом из воздействий (тормозящиеся; рис. 2).

В БЯШ частоты исходной (фоновой) импульсной активности указанных групп ноцицептивных нейронов существенно не различались ($p = 0.05$, $KW = 7.7$, тест Краскела–Уоллиса). В свою очередь, относящиеся к разным ноцицептивным группам нейроны ДЯШ характеризовались отличающимися частотами фоновых разрядов ($p < 0.001$, $KW = 58.7$). Среди них максимальной частотой фоновой активности обладали тормозящиеся нейроны (для всех сравнений с другими группами: $p = 0.0017–0.0001$, $U = 16855–32486$, тест Манна–Уитни–Вилкоксона), а минимальной – общие ноцицептивные клетки (для всех сравнений: $p = 0.005–0.0001$, $U = 16855–37175$; табл. 1). При этом средняя частота фоновых разрядов всех возбуждающихся ноцицептивных нейронов в ДЯШ была ниже, чем у таковых в БЯШ (0.9 [0.6; 1.5] имп/с, $n = 422$ vs. 1.7 [1.1; 2.6] имп/с, $n = 764$; $p < 0.001$, $U = 87326$).

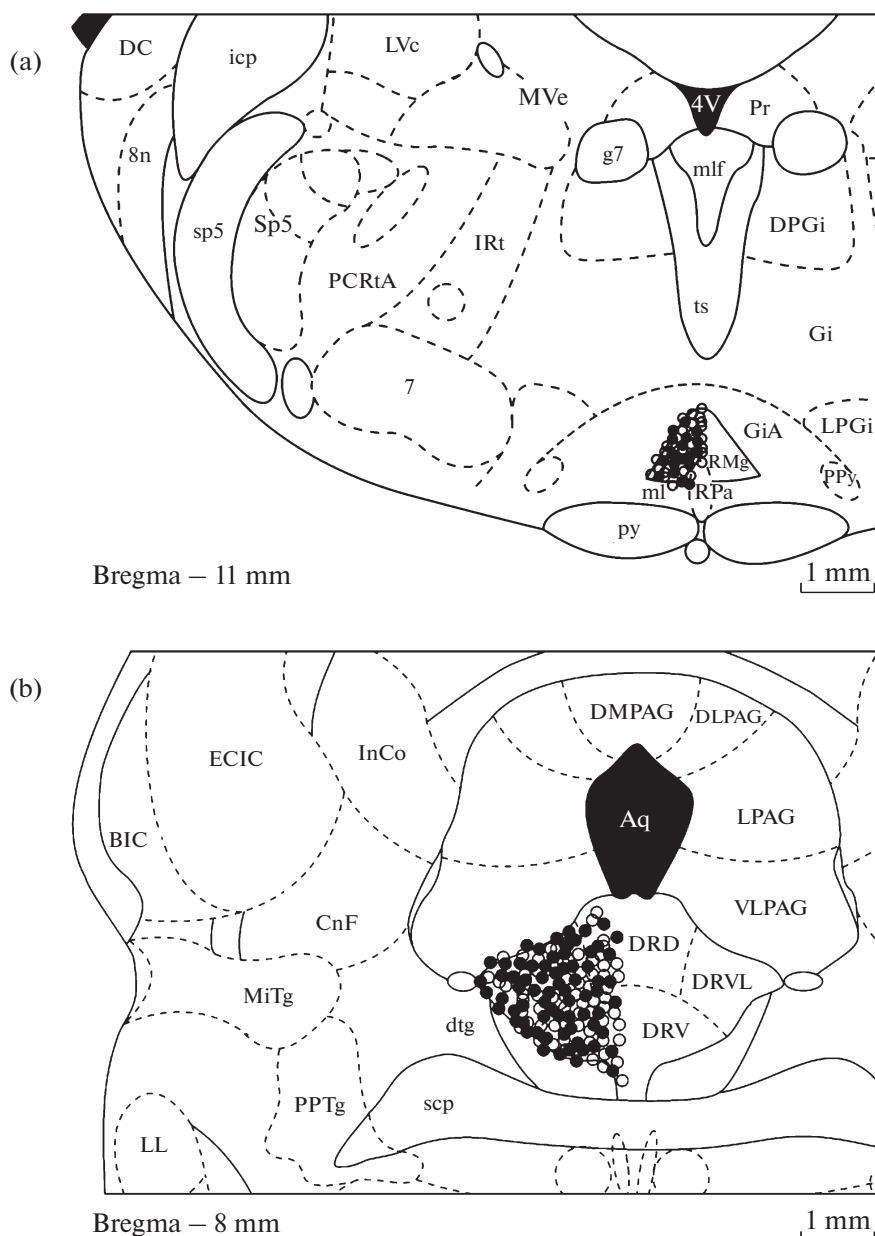


Рис. 1. Локализация мест регистрации нейронов в большом (а) и дорсальном (б) ядрах шва у здоровых (темные символы) и перенесших колит (светлые символы) крыс. Каждый символ соответствует локализации нескольких изученных нейронов. Схемы срезов адаптированы из стандартного атласа мозга крысы [35].

Обозначения на (а): 4V – IV желудочек мозга, 7 – ядро лицевого нерва, 8n – преддверно-улитковый нерв, DC – дорсальное ядро улитки, DPGi – дорсальное парагигантоклеточное ядро, g7 – колено лицевого нерва, Gi – гигантоклеточное ретикулярное ядро, GiA – часть альфа гигантоклеточного ретикулярного ядра, icp – нижняя ножка мозжечка, IRt – промежуточное ретикулярное ядро, LPGi – латеральное парагигантоклеточное ядро, LVc – латеральное вестибулярное ядро, MVe – медиальное вестибулярное ядро, PCRtA – часть альфа мелкоклеточного ретикулярного ядра, PPu – парапирамидное ядро, Pr – предлежащее ядро, py – пирамидный тракт, RMg – большое ядро шва, RPa – бледное ядро шва, sp5 – спинальный тройничный тракт, Sp5 – спинальное ядро тройничного нерва, ts – покрышечно-спинномозговой путь. Обозначения на (б): Aq – Сильвиев водопровод, BIC – ядро плеча нижнего двухолмия, CnF – клиновидное ядро, DRD – дорсальная часть дорсального ядра шва, DRV – вентральная часть дорсального ядра шва, DRVL – вентролатеральная часть дорсального ядра шва, dtg – пучок дорсального ядра покрышки, ECIC – внешняя кора нижнего двухолмия, InCo – межколликкулярное ядро, LL – латеральный лемниск, MiTg – мелкоклеточное ядро покрышки, DLPAG – дорсолатеральная колонка околводопроводного серого вещества, DMPAG – дорсомедиальная колонка околводопроводного серого вещества, LPAG – латеральная колонка околводопроводного серого вещества, VLPAG – вентролатеральная колонка околводопроводного серого вещества, PPTg – педункулопонтинное ядро покрышки, scp – верхняя ножка мозжечка.

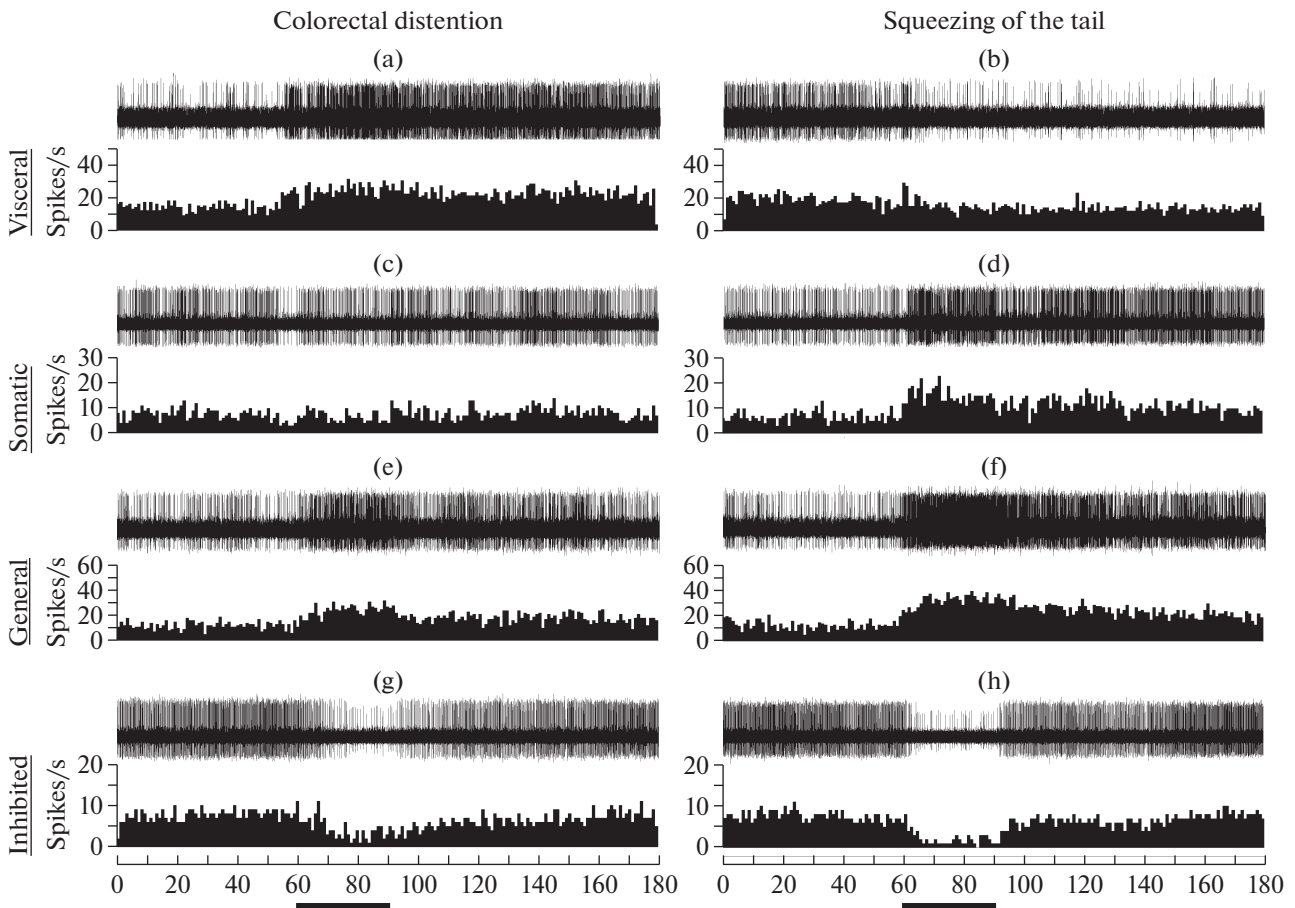


Рис. 2. Типичные примеры ноцицептивной активности нейронов большого (g–h) и дорсального (a–f) ядер шва, относящихся к различным функциональным группам. (a–h) Нативные записи импульсной активности (верхняя часть) и соответствующие частотные гистограммы (нижняя часть), демонстрирующие ответы висцерального (a, b), соматического (c, d), общего (e, f) и тормозящегося (g, h) ноцицептивных нейронов на болевое колоректальное растяжение (colorectal distention) и сдавливание хвоста (squeezing of the tail). По оси абсцисс – время в секундах, по оси ординат – частота разрядов (имп/с). Бин гистограммы – 1 с. Горизонтальные отрезки – время действия раздражения.

БЯШ и ДЯШ также отличались по процентному содержанию разных типов ноцицептивных нейронов. В частности, наблюдались статистически значимые различия между ядрами по соотношению в них тормозящихся нейронов и общего числа возбуждающихся при разных болевых воздействиях клеток ($p < 0.001$, точный тест Фишера). При этом БЯШ содержало существенно меньшую, чем в ДЯШ, долю тормозящихся нейронов при большем числе возбуждающихся (табл. 1). Однако в ДЯШ среди последних было отмечено большее, чем в БЯШ, процентное содержание висцеральных и общих ноцицептивных клеток при меньшей доле соматических ($p < 0.001$, $\chi^2 = 17.9$, критерий Хи-квадрат). Для ДЯШ также были характерные более выраженные, чем в БЯШ, реакции общих ноцицептивных нейронов на висцеральные ($p = 0.03$, $U = 15821$, тест Манна–Уитни–Вилкоксона) и соматические болевые стимулы ($p = 0.02$, $U = 15588$), а также соматических и тормозящихся нейронов – на соматиче-

ское болевое раздражение (соответственно, $p < 0.01$, $U = 33764$ и $p = 0.046$, $U = 6757$; табл. 1). Селективные соматические нейроны ДЯШ по сравнению с таковыми в БЯШ также демонстрировали более выраженное торможение активности при висцеральном болевом раздражении ($p = 0.04$, $U = 34821$), тогда как тормозящиеся клетки реагировали на этот же стимул менее интенсивно ($p = 0.02$, $U = 6486$).

Ноцицептивные свойства нейронов большого и дорсального ядер шва в постколитный период

У животных, перенесших колит, было зарегистрировано 590 нейронов в области БЯШ и 821 клетка – в ДЯШ. Из них 530 (89.8%) клеток в БЯШ и 730 (88.9%) нейронов ДЯШ в ответ на висцеральное и/или соматическое болевое раздражение демонстрировали выраженные изменения импульсной активности разной направленности (для

разных ответов: $p < 0.001$, парный тест Вилкоксона). Остальные 60 (10.2%) клеток в БЯШ и 91 нейрон (11.1%) в ДЯШ были индифферентными к болевому сигналу. По сравнению со здоровыми животными, БЯШ постколитных крыс характеризовалось повышенным количеством реагирующих на болевые воздействия нейронов при сниженной доле индифферентных ($p < 0.001$, точный тест Фишера), тогда как в ДЯШ это соотношение существенно не изменялось ($p = 0.77$).

Между тем среди отвечающих на болевые стимулы нейронов БЯШ в постколитный период наблюдалось увеличение числа тормозящихся и снижение доли возбуждающихся ноцицептивных нейронов ($p < 0.01$, точный тест Фишера; рис. 3а). При этом среди последних соотношение клеток, относящихся к висцеральной, соматической или общей группам, оставалось без значимых изменений ($p = 0.16$, $\chi^2 = 3.7$, критерий Хи-квадрат; рис. 3б). Напротив, ДЯШ животных, перенесших колит, содержало меньшее, чем в норме, количество тормозящихся нейронов и большее число возбуждающихся ($p < 0.001$, точный тест Фишера; рис. 3с), превосходя по данному показателю ноцицептивной возбудимости БЯШ ($p < 0.001$, точный тест Фишера). В этих условиях было отмечено также изменение в распределении возбуждающихся ноцицептивных клеток ДЯШ по функционально различным группам ($p < 0.001$, $\chi^2 = 17.6$, критерий Хи-квадрат), которое проявлялось в существенном увеличении популяции селективных соматических нейронов при уменьшении доли висцеральных ($p < 0.001$, точный тест Фишера; рис. 3д).

Для постколитного периода было характерным снижение частоты фоновых разрядов у всех групп возбуждающихся ноцицептивных нейронов БЯШ: висцеральных ($p = 0.02$, $U = 1549$, тест Манна-Уитни-Вилкоксона), соматических ($p < 0.001$, $U = 18658$) и общих ($p < 0.001$, $U = 3783$; рис. 4а). Последние в этих условиях проявляли минимальный уровень фоновой активности, существенно отличавшийся от такового у висцеральных ($p < 0.001$, $U = 2522$) и соматических ($p < 0.001$, $U = 8874$), а также тормозящихся клеток ($p < 0.001$, $U = 3177$). При этом по сравнению с нормой усиливалось селективное торможение нейронов БЯШ при поступлении к ним как висцеральных ($p < 0.001$, $U = 22643$; рис. 4б), так и соматических болевых сигналов ($p = 0.01$, $U = 1501$; рис. 4с). Одновременно сдавливание незатронутого патологией хвоста вызывало более выраженное, чем в норме, возбуждение селективных соматических и общих ноцицептивных клеток данного ядра (соответственно, $p < 0.001$, $U = 21677$ и $p < 0.001$, $U = 5852$; рис. 4с). Последние также демонстрировали усиление реактивности к растяжению перенесшей воспаление кишки ($p < 0.01$, $U = 5988$), в то время как реакции селективных висцеральных нейронов БЯШ на дан-

Таблица 1. Характеристики ноцицептивных нейронов большого (RMg) и дорсального (DR) ядер шва крысы в норме

Тип нейронов	Количество (процент)		Фоновая активность (имп/с)		Реакция на КРР (% от уровня фоновой активности)		Реакция на сдавливание хвоста (% от уровня фоновой активности)	
	RMg	DR	RMg	DR	RMg	DR	RMg	DR
Тормозящ.	63 (13.0%)	256 (25.1%) ^{&&&}	1.3 [0.9; 2.2]	1.3 [0.8; 2.2] ^{###}	-19.3 [-30.9; -3.8]	-14.2 [-23.5; 0.2] [*]	-19.4 [-36.7; -8.6]	-26.2 [-49.6; -11.7] [*]
Возбужд.	422 (87.0%)	764 (74.9%) ^{&&&}						
висцеральн.	56 (13.3%)	161 (21.1%) ^{&&&}	2.0 [0.9; 4.1]	1.0 [0.5; 2.0] ^{###,††}	27.0 [19.6; 38.1]	30.5 [22.6; 46.2]	-2.8 [-14.5; 5.3]	-6.3 [-24.5; 4.2]
соматич.	233 (55.2%)	333 (43.6%) ^{&&&, &}	1.7 [1.2; 2.5]	0.9 [0.7; 1.5] ^{###,†††}	-1.8 [-11.7; 7.1]	-5.0 [-15.0; 4.5] [*]	41.1 [23.4; 79.5]	49.6 [28.1; 102.3] ^{**}
общие	133 (31.5%)	270 (35.3%) ^{&}	1.6 [1.0; 2.7]	0.8 [0.6; 1.3] ^{†††}	29.7 [20.4; 44.6]	36.1 [24.2; 52.4] [*]	47.6 [27.9; 95.2]	60.4 [32.7; 128.1] [*]

Примечание. Данные представлены как медиана с межквартильными интервалами (Me [Q1; Q3]). КРР – болевое колоректальное растяжение. Значимые различия между DR и RMg: & – $p < 0.05$, &&& – $p < 0.001$, точный тест Фишера; * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, тест Манна-Уитни-Вилкоксона. Значимые различия между "Общими" нейронами DR и его другими нейрональными группами: ## – $p < 0.01$, ### – $p < 0.001$, тест Манна-Уитни-Вилкоксона. Значимые различия между "Тормозящимися" нейронами DR и другими нейрональными группами: † – $p < 0.01$, †† – $p < 0.001$, тест Манна-Уитни-Вилкоксона.

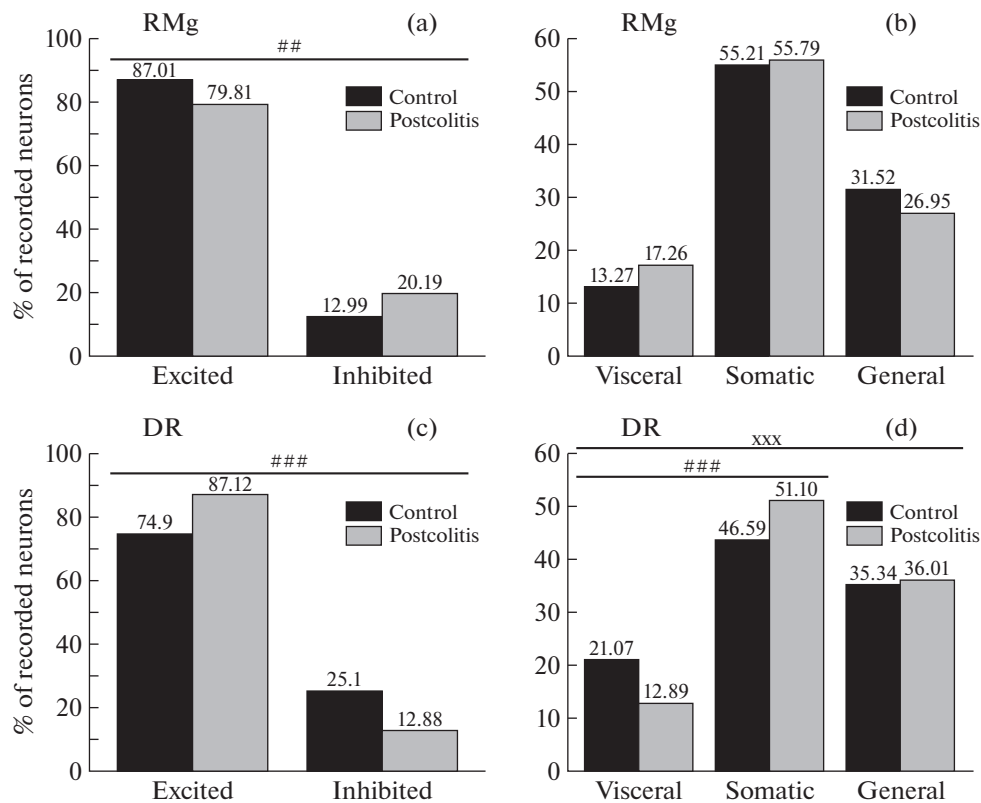


Рис. 3. Постколитные изменения в представительстве нейронов большого (RMg) и дорсального (DR) ядер шва, относящихся к разным ноцицептивным группам. (а, с) Процентное соотношение возбуждающихся (Excited) и тормозящихся (Inhibited) при болевых воздействиях клеток. По оси ординат – % от всех зарегистрированных нейронов. (b, d) Процентное представительство висцеральных (Visceral), соматических (Somatic) и общих (General) ноцицептивных нейронов. По оси ординат – % от общего количества возбуждающихся нейронов. На (а, с, d), значимые различия между группами здорового контроля (Control) и перенесшей колит (Postcolitis): ^{xxx} – $p < 0.001$, тест Хи-квадрат; ^{##} – $p < 0.01$, ^{###} – $p < 0.001$, точный тест Фишера.

ную стимуляцию оставались без существенных изменений ($p = 0.24$, $U = 1799$; рис. 4b).

В свою очередь, в ДЯШ крыс, перенесших колит, сниженная по сравнению с нормой фоновая активность была отмечена у возбуждающихся висцеральных ($p < 0.01$, $U = 5155$, тест Манна–Уитни–Вилкоксона) и общих ноцицептивных нейронов ($p < 0.01$, $U = 26070$), а также в группе тормозящихся клеток ($p = 0.02$, $U = 10005$; рис. 5a). Частота фоновых разрядов последних в этих условиях была существенно ниже этого показателя у тормозящихся нейронов БЯШ ($p < 0.01$, $U = 3730$, тест Манна–Уитни–Вилкоксона), хотя в норме от него не отличалась. Несмотря на снижение уровня фоновой активности общих ноцицептивных нейронов ДЯШ, в постколитный период наблюдалось усиление их возбуждения в ответ как на висцеральное ($p < 0.01$, $U = 26356$, тест Манна–Уитни–Вилкоксона; рис. 5b), так и соматическое ($p < 0.001$, $U = 23396$; рис. 5c) болевые воздействия. Это сопровождалось также ростом селективного возбуждения соматических клеток этого ядра при поступлении к ним болевых

сигналов от хвоста ($p < 0.001$, $U = 45289$). В свою очередь, реакции висцеральных ноцицептивных нейронов ДЯШ на растяжение перенесшей воспаление кишки, как и на сдавливание незатронутого патологией хвоста, не претерпели существенных изменений ($p = 0.22$, $U = 5958$ и $p = 0.92$, $U = 6548$ соответственно; рис. 5b, c).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные в работе данные свидетельствуют, что реципиентами висцеральных и соматических болевых сигналов в БЯШ и ДЯШ являются отличающиеся по функциональным характеристикам популяции нейронов. Помимо общих ноцицептивных нейронов, реагирующих возбуждением на оба вида стимулов, изученные структуры серотонинергической системы содержат популяции нервных клеток, дифференцированным образом отвечающие на висцеральное и соматическое болевое воздействия (висцеральные и соматические ноцицептивные соответственно). Отдельную группу составляют нейроны, реагирующие на любой из

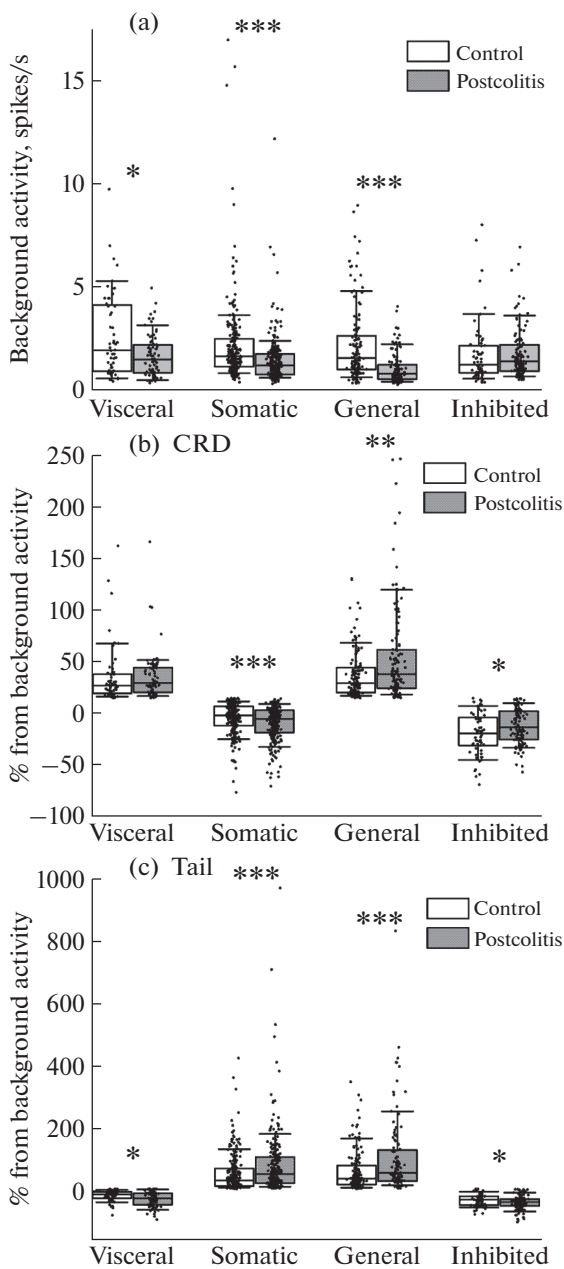


Рис. 4. Вызванные колитом изменения в фоновой и вызванной импульсных активностях ноцицептивных нейронов большого ядра шва, относящихся к висцеральной (Visceral), соматической (Somatic), общей (General) и тормозящейся (Inhibited) группам. (a) Фоновая активность. По оси ординат – частота разрядов, имп/с. (b, c) Реакции на висцеральное (b) и соматическое (c) болевые раздражения. По оси ординат – % изменения частоты импульсации от уровня фона. CRD – болевое колоректальное растяжение, Tail – сдавливание хвоста. На (a–c), 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 (Control) и перенесшей колит (Postcolitis): * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$, тест Манна–Уитни–Вилкоксона.

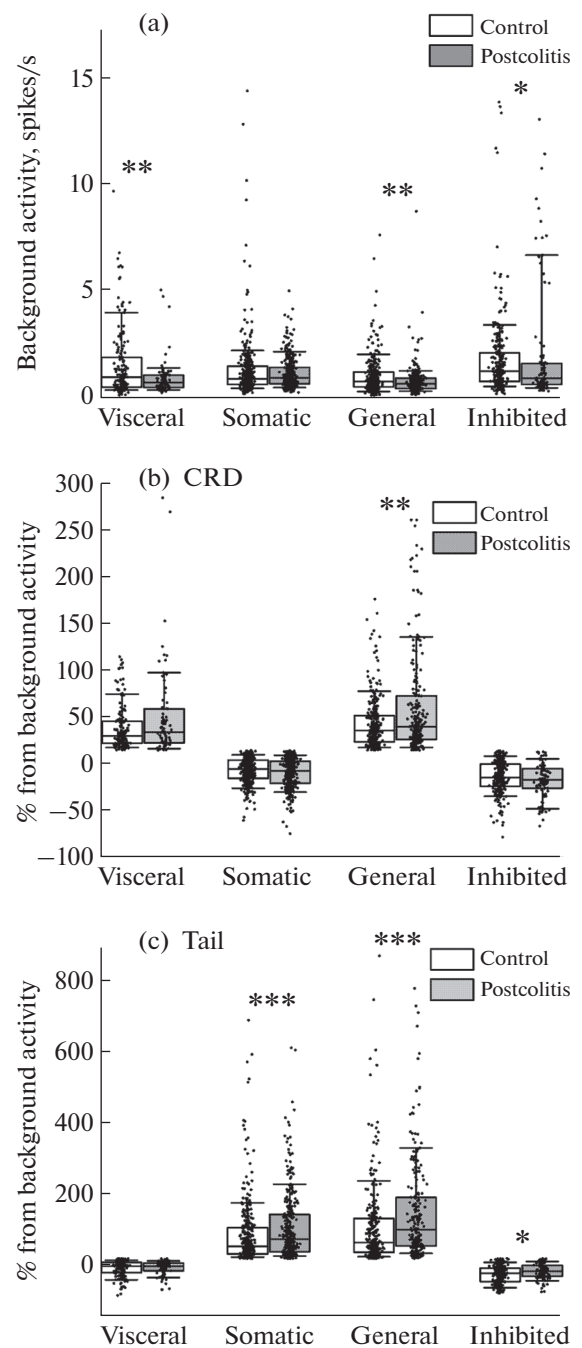


Рис. 5. Постколитные изменения в фоновой и вызванной импульсных активностях ноцицептивных нейронов дорсального ядра шва, относящихся к висцеральной (Visceral), соматической (Somatic), общей (General) и тормозящейся (Inhibited) группам. (a) Фоновая активность. По оси ординат – частота разрядов, имп/с. (b, c) Реакции на висцеральное (b) и соматическое (c) болевые раздражения. По оси ординат – % изменения частоты импульсации от уровня фона. CRD – болевое колоректальное растяжение, Tail – сдавливание хвоста. Значимые различия между группами здорового контроля (Control) и перенесшей колит (Postcolitis): * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$, тест Манна–Уитни–Вилкоксона. Остальные обозначения как на рис. 4.

болевых стимулов торможением импульсной активности (тормозящиеся ноцицептивные нейроны). Впервые установлено, что следствием перенесенного кишечного воспаления является увеличение в БЯШ количества тормозящихся ноцицептивных нейронов и снижение доли клеток, возбуждающихся при действии соматических и/или висцеральных болевых раздражителей. При этом по сравнению с нормой усиливается селективное торможение нейронов БЯШ при поступлении к ним болевых сигналов разного вида, особенно исходящих от перенесшей воспаление кишки, но существенно возрастает возбуждение его селективных соматических и общих ноцицептивных клеток при сдавливании незатронутого патологией хвоста. В свою очередь, ДЯШ в постколитный период характеризуется увеличением доли в нем возбуждающихся при разных болевых воздействиях нейронов при снижении количества тормозящихся, а также сокращением представительства селективных висцеральных ноцицептивных клеток с увеличением числа соматических ноцицептивных. Это сопровождается усилением избирательных реакций последних на соматические болевые стимулы и повышением уровня недифференцированного возбуждения общих ноцицептивных нейронов ДЯШ в ответ на висцеральные и соматические болевые воздействия.

Продемонстрированные нами особенности реакций нейронов БЯШ на висцеральные и соматические болевые раздражители согласуются с данными других нейрофизиологических исследований этого ядра. Ранее в области БЯШ крысы были обнаружены клетки, которые в ответ на болевую термическую стимуляцию хвоста демонстрировали усиление или торможение импульсной активности, непосредственно предшествующие реализации ноцицептивного рефлекса его одергивания. Такие нейроны были обозначены как клетки “включения” и “выключения” (ON- и OFF-клетки) соответственно. Те нейроны БЯШ, которые не реагировали на соматическую болевую стимуляцию, были отнесены к нейтральным или NEUTRAL-клеткам [20, 36]. Было установлено, что ON-клетки ингибируются морфином, и поэтому их рассматривают в качестве элементов возбуждающей проноцицептивной системы. Тогда как OFF-клетки активируются под действием морфина и, как полагают, связаны с механизмами антиноцицепции [20, 37, 38]. В нашем исследовании были обнаружены сходные по свойствам группы нейронов БЯШ, которые отвечали однонаправленными реакциями усиления или торможения активности как на соматическое, так и висцеральное болевое раздражение, либо не реагировали ни на один из применяемых нами стимулов, позволяя рассматривать их в качестве функциональных аналогов, описанных выше ON-, OFF- и NEUTRAL-клеток соответственно. Однако, поскольку мы не могли по условиям наших экспериментов напря-

мую использовать данную функциональную классификацию, которая изначально была основана на сопоставлении реакций нейронов БЯШ на болевую термическую стимуляцию хвоста с реализацией ноцицептивной реакции его одергивания [36], мы обозначили такие зарегистрированные нами клетки, как общие возбуждающиеся и тормозящиеся ноцицептивные нейроны, либо индифферентные.

Между тем в более подробных исследованиях БЯШ рядом исследователей было показано наличие диссоциации между реакциями его клеток на соматические и висцеральные болевые стимулы, выразившейся в том, что некоторые его нейроны, которые являлись ON-клетками (т.е. возбуждались) при соматической болевой стимуляции, реагировали как OFF- или NEUTRAL-клетки (т.е. тормозили свою активность или ее не изменяли) при действии висцерального болевого раздражителя. Аналогично нейроны БЯШ, проявившие себя в отношении соматической ноцицепции как OFF-клетки, могли являться ON- или NEUTRAL-клетками для висцеральной болевой трансмиссии [39–41]. В нашем исследовании также были зарегистрированы нейроны БЯШ, демонстрирующие дифференцированные реакции на разные виды боли. Такие нейроны были впервые выделены нами в отдельные функциональные группы. Те из них, что проявляли возбуждающие (т.е. ON-подобные) реакции только лишь при поступлении соматического болевого сигнала, были отнесены к соматическим ноцицептивным клеткам БЯШ, а те, которые избирательно активировались только лишь при висцеральной болевой стимуляции, – к висцеральным ноцицептивным.

Аналогичные указанным выше популяции общих возбуждающихся или тормозящихся, а также селективных соматических и висцеральных ноцицептивных нейронов были впервые обнаружены нами в ДЯШ. Реакции клеток последнего на разные виды болевых сигналов на данный момент мало изучены. В доступной литературе имеются доказательства активации c-fos-позитивных клеток ДЯШ при действии как соматических, так и висцеральных стимулов различной природы (механических, химических, термических) [13, 42–44], а также данные о генерации его нейронами возбуждающих и тормозящих импульсных реакций на соматические болевые воздействия [45, 46]. Однако сравнительное изучение нейрональных ответов в ДЯШ на разные виды боли до настоящего времени никем не проводилось, поэтому полученные нами данные об особенностях импульсных реакций его клеток на висцеральные и соматические болевые сигналы являются новыми.

Ранее нейроны, демонстрирующие недифференцированные и селективные ответы на висцеральное (колоректальное растяжение) и соматиче-

ское (сдавливание хвоста) болевые раздражения, были продемонстрированы нами в каудальной вентролатеральной ретикулярной области продолговатого мозга крысы [47], которая представляет собой первое супраспинальное образование, осуществляющее обработку ноцицептивных сигналов от разных областей тела, поступающих в головной мозг по вентролатеральным спинальным путям [26, 27]. Сходные по свойствам популяции нервных клеток были показаны в этой области также другими исследователями [48, 49]. Кроме того, нейроны с селективными возбуждающими или тормозными ответами на активацию висцерального или соматического болевых входов были обнаружены ранее в дорсальном роге спинного мозга [50, 51], а также в переднем гипоталамусе [52], вентральном заднелатеральном и вентромедиальном ядрах таламуса [53–55]. В своей совокупности эти данные свидетельствуют о существовании на разных уровнях центральной нервной системы, вплоть до таламуса, специфических нейрональных популяций, обеспечивающих общий или селективный контроль висцеральных и соматических болевых сигналов. Продемонстрированные в нашем исследовании группы общих и селективных ноцицептивных нейронов БЯШ и ДЯШ могут являться частью таких нейрональных систем.

Нейрохимические характеристики зарегистрированных нами ноцицептивных клеток в ядрах шва на данном этапе остаются неясными. Как известно, БЯШ и ДЯШ нейрохимически являются очень гетерогенными структурами и, помимо серотонинергических нейронов, содержат клетки, синтезирующие глутамат, гамма-аминомасляную кислоту (ГАМК), окись азота, норадреналин, дофамин и энкефалин, которые могут сочетаться с такими нейропептидами, как вещество Р, энкефалины, соматостатин, холецистокинин, кортикотропин-рилизинг-гормон, нейропептид Y и др. [20, 22, 56–59]. При этом в разных исследованиях установлено, что в обоих ядрах серотонинергические нейроны составляют меньшую часть активирующихся при разных видах ноцицепции клеток, тогда как большинство нейронов этих структур, усиливающих (ON-подобных) или снижающих свою активность (OFF-подобных) в ответ на соматические и висцеральные болевые воздействия, не синтезируют серотонин [22, 40, 42, 43, 57, 60, 61]. Согласно имеющимся данным, кандидатами в несеротонинергические нейроны БЯШ, которые активируются при поступлении соматической болевой информации (относятся к ON-подобным), являются глутамат- и ГАМКергические клетки [62, 63]; часть последних также может синтезировать энкефалин [64]. Однако нейроны БЯШ со свойствами OFF-подобных клеток, т.е. тормозящиеся при поступлении соматических болевых сигналов, как установлено, также могут содержать ГАМК [57, 63, 65]. Что касается несеротониновых нейронов ядер шва,

которые являются реактивными к висцеральной боли, то сведения по этому поводу единичны и касаются лишь вовлечения в процессы кишечной ноцицепции нитроергических клеток в ДЯШ [66]. Очевидно, что рассмотренные выше данные являются недостаточными для высказывания однозначного предположения о нейрохимических характеристиках тех групп ноцицептивных нейронов БЯШ и ДЯШ, которые продемонстрированы в нашей работе. Предположительно, они могут включать как серотонинергические, так и глутамат, ГАМК- и/или энкефалин-, а также нитроергические клетки в различных комбинациях. Мы не можем исключить, что часть из них также может синтезировать различные нейропептиды. Несомненно, данный аспект нуждается в дальнейшем специальном исследовании.

Как впервые показали проведенные нами эксперименты, на протяжении месяца после перенесенного кишечного воспаления наблюдается уменьшение количества нейронов БЯШ, активирующихся при висцеральных и/или соматических болевых воздействиях, с увеличением в нем доли тормозящихся при разных видах ноцицепции нейронов. В совокупности с наблюдающимся в этот период снижением фоновой активности всех групп возбуждающихся ноцицептивных клеток в этом ядре, отмеченные изменения свидетельствуют об общем усилении в нем тормозных процессов. Как установлено, нейрональное торможение в БЯШ избирательно еще более усугубляется при поступлении болевых сигналов от постколитной кишки или, в меньшей степени, от незатронутого патологией хвоста. При этом раздражение последнего вызывает более выраженное, чем в норме, возбуждение у селективных соматических и общих ноцицептивных клеток БЯШ. Такие изменения могут приводить к нарушению функций БЯШ в эндогенной системе контроля болевой чувствительности, способствуя тем самым висцеральной и соматической гипералгезиям, которые были отмечены в ранний постколитный период в наших поведенческих экспериментах [67], а также в работах других авторов [68–70].

Косвенным подтверждением могут служить результаты предыдущего исследования, в котором при острой висцеральной гипералгезии, вызванной внутрикишечным введением капсаицина, в области БЯШ было отмечено сходное описанному нами усиление тормозных (OFF-подобных) нейрональных реакций на болевые кишечную и кожную стимуляции, а наблюдавшаяся в этих условиях соматическая гиперчувствительность была ассоциирована с возрастом возбуждающих (ON-подобных) ответов нейронов на термическое и механическое раздражения задних конечностей и хвоста [18]. Последнее было подобно сенситизации таких клеток, возникающей при непосредственном химическом раздражении кожи лап или перифериче-

ской нейропатии [71–73]. Следует отметить, что в работе Sanoja и соавт. [18] ON-подобные клетки были общими для соматической и висцеральной ноцицепции и, помимо сенситизации к кожным стимулам, также проявляли усиление реакций на болевое растяжение кишки. Аналогами таких клеток в нашем исследовании являлись общие ноцицептивные нейроны БЯШ, которые в постколитный период также проявляли усиление реактивности не только к соматическим, но, хоть и в меньшей степени, также к висцеральным болевым сигналам, позволяя предполагать однонаправленный механизм их вовлечения в сочетанное развитие висцеральной и соматической гипералгезий. В свою очередь, участие в этом процессе впервые продемонстрированных нами селективных висцеральных и соматических ноцицептивных нейронов БЯШ, по всей вероятности, обеспечивается различными механизмами, поскольку в первых из них после колита происходит усиление лишь тормозных ноцицептивных феноменов, тогда как в последних усиливаются торможение при висцеральной и возбуждение – при соматической ноцицепции. Это является дополнительным свидетельством функциональной разнородности этих нейрональных групп.

В основе выявленных нами постколитных нейрональных перестроек в БЯШ может лежать усиление в нем серотонинергической трансмиссии. Хотя прямые доказательства в пользу такого предположения на данный момент отсутствуют, хорошо известны данные о повышении уровня синтеза серотонина и усилении активности серотонинергических клеток в области этого ядра при моделировании персистирующих воспалительной и невропатической соматических болей [74–76]. При этом специальными исследованиями установлено, что селективная активация ON-подобной популяции серотонинсинтезирующих нейронов в области БЯШ способствует развитию механической и температурной гипералгезии в соматических тканях задней части тела [77, 78], в частности, за счет усиления возбуждающих серотонинергических влияний этой структуры на спинальную болевую трансмиссию [74, 77, 79]. Если кишечное воспаление способно вызвать в БЯШ сходные процессы, то они, по крайней мере, частично могут быть связаны с наблюдавшимися нами в постколитный период усилением селективного и неселективного возбуждения его нейронов при болевом сжатии хвоста. Определенный вклад в этот процесс могут вносить также локальные глутамат-зависимые механизмы, которые, как показано ранее, вовлечены в усиление ноцицептивной возбудимости клеток в области БЯШ при кишечной патологии [18].

С другой стороны, поствоспалительное повышение уровня активности серотонинергических клеток в БЯШ может также способствовать отмеченному нами усилению в нем локальной тормозной нейротрансмиссии, в том числе ноцицептив-

ной, поскольку хорошо известно тормозное действие серотонина на серотонинергические и несеротонинергические, в частности, глутамат- и ГАМК-синтезирующие, клетки данного ядра через 5-HT_{1A} ауто- и гетерорецепторы соответственно [80–83]. Одним из следствий активации локальных 5-HT_{1A} ауторецепторов может быть подавление тех серотонинергических элементов БЯШ (OFF-подобных), которые обеспечивают иницируемую им эндогенную антиноцицепцию [20, 84]. Кроме того, одной из клеточных популяций данного ядра, испытывающих в этих условиях серотонин-вызванное торможение активности, могут являться проецирующиеся к спинному мозгу ГАМКергические нейроны, которые также вовлечены в нисходящий тормозный контроль спинальной ноцицепции [57, 64]. Между тем мы не можем исключить также непосредственный вклад в постколитное усиление нейронального торможения в БЯШ, потенциально способное привести к ослаблению его антиноцицептивной функций, внутриядерных ГАМКергических механизмов, в свою очередь оказывающих тормозные влияния на серотонинергические нейроны БЯШ [80, 85, 86]. Продемонстрированные нами разнонаправленные изменения в активности выявленных групп ноцицептивных нейронов БЯШ дают основание предполагать различный вклад рассмотренных выше механизмов в постколитные перестройки каждой из них. Несомненно, данное предположение нуждается в специальном исследовании.

Как свидетельствуют результаты наших экспериментов, постколитные нейрональные изменения в ДЯШ носят противоположный характер по сравнению с таковыми в БЯШ. После перенесенного кишечного воспаления в ДЯШ наблюдаются увеличение числа возбуждающихся при разных болевых воздействиях нейронов при сокращении представительства тормозящихся ноцицептивных клеток, а также уменьшение доли селективных висцеральных ноцицептивных клеток с увеличением количества соматических ноцицептивных. Это сопровождается усилением избирательных реакций последних на соматические болевые стимулы и повышением уровня неселективного возбуждения общих ноцицептивных нейронов в ответ на висцеральные и соматические болевые воздействия. В целом эти изменения могут свидетельствовать о постколитном подъеме общего уровня реактивности (сенситизации) данного ядра к ноцицептивным сигналам разного рода, включая таковые от незатронутого патологией хвоста. Учитывая эфферентные связи ДЯШ, такая сенситизация может приводить к неадекватному текущим периферическим событиям усилению передачи им как висцеральной, так и соматической болевой информации к таким важным для контроля болевой чувствительности структурам переднего мозга, как парафасцикулярное, вентральное заднелатеральное и

центральное латеральное ядра таламуса, центральное ядро амигдалы, а также первичная соматосенсорная и медиальная префронтальная кортикальные области [22, 56, 87]. Как результат, это может способствовать недифференцированному усилению обеспечиваемых этими структурами перцептуальных, эмоционально-аффективных и когнитивных компонентов реакции на разные виды боли, усугубляя состояние сочетанных висцеральной и соматической гипералгезий, наблюдающееся после перенесенной кишечной патологии [69, 70].

Несомненно, одним из первых кандидатов в нейротрансмиттеры, участвующие в постколитных перестройках в ДЯШ, которые способствуют висцеральной и соматической гипералгезиям, является серотонин. Ранее было установлено, что проявление кишечной гиперчувствительности у неонатально отделенных от матери (неонатально стрессированных) крыс ассоциировано с повышенными уровнями экспрессии в ДЯШ серотонина и триптофан-гидроксилазы, а также с увеличенным количеством в нем реагирующих на болевое колоректальное растяжение серотонинергических нейронов [13, 14]. При этом фармакологическое или акупунктурное подавление серотонин-синтезирующей функции ДЯШ у таких животных способствовало уменьшению висцеральной болевой чувствительности [14, 88]. С этими данными согласуется демонстрация кишечной гипералгезии у мышей с нокаутом гена серотонинового транспортера, характеризующихся усиленными эффектами серотонина в мозге [89]. Между тем при развитии соматической гипералгезии воспалительного генеза (инъекция формалина в заднюю лапу) у таких же неонатально отделенных от матери крыс, наоборот, наблюдалось снижение *c-fos*-позитивной активности серотонинергических клеток ДЯШ [44], что соответствует имеющимся сведениям о важной роли последних в соматической антиноцицепции, а также о развитии соматической гипералгезии при их дисфункции [22, 90, 91]. Несмотря на то что эти данные были получены на отличной от нашей экспериментальной модели, они показывают, что серотонин-зависимые процессы в ДЯШ могут быть по-разному вовлечены в нарушения висцеральной и соматической болевых чувствительностей. Основой для таких различий могут являться гетерогенные по своим электрофизиологическим, молекулярным и проекционным характеристикам популяции серотонин-синтезирующих нейронов, которые способны противоположным образом изменять свою активность в условиях патологии [56, 92]. На основании совокупности изложенных выше сведений мы можем предположить, что наблюдавшиеся нами в постколитный период усиление ноцицептивной активности нейронов ДЯШ, относящихся к популяциям с разными реакциями на висцеральные и соматические болевые стимулы, может являться результатом разнонаправленных изменений серо-

тонинергической трансмиссии в каждой из них, которые еще предстоит исследовать.

Еще одним нейротрансмиттером, который может способствовать усилению проноцицептивной функции ДЯШ после перенесенного колита, является ГАМК. Ранее было показано, что стимуляция ГАМКергических процессов в этом ядре усиливает соматическую болевую чувствительность, а микроинъекции в него антагонистов ГАМК, наоборот, усиливают анальгезию [22, 93]. Учитывая способность ГАМК-синтезирующих элементов в ДЯШ подавлять как его серотонинергические клетки, так и локальные ГАМКергические интернейроны [22], мы полагаем, что постколитное усиление ГАМКергической нейротрансмиссии в этом ядре может не только приводить к снижению его серотонин-зависимой антиноцицептивной активности, но и вызывать “растормаживание” подавленных в норме реакций его клеток на те или иные болевые сигналы. Одним из следствий таких перестроек может являться наблюдавшееся нами после колита повышение доли в этом ядре активирующихся при ноцицепции нейронов. Результатом усиления ГАМК-зависимых механизмов в ДЯШ также может быть ослабление в нем дофаминергической нейрональной активности, что может приводить к дефициту дофамин-зависимого тормозного контроля соматической болевой чувствительности со стороны этого ядра [59, 94–96]. В свою очередь, активирующиеся при кишечном воспалении локальные нитроергические механизмы [66] могут вносить свой вклад в постколитное усиление реактивности общих ноцицептивных нейронов ДЯШ к колоректальному растяжению, способствуя тем самым развитию висцеральной гипералгезии. Несомненно, что для проверки справедливости этих предположений и определения конкретной роли каждого из перечисленных выше процессов в продемонстрированных нами перестройках активности разных популяций ноцицептивных нейронов в ДЯШ необходимы специальные исследования.

Таким образом, проведенное нами исследование впервые показало, что следствием кишечного воспаления (колита), сохраняющимся, как минимум, в течение месяца после его разрешения, являются перестройки в ноцицептивной активности большого и дорсального ядер шва. Эти перестройки по-разному проявляются в функционально различающихся нейрональных популяциях этих структур и, в целом, для большого и дорсального ядер носят разнонаправленный характер. Наблюдающееся в постколитный период нарастание тормозных процессов в большем ядре шва, еще более усугубляющихся при поступлении болевых сигналов от перенесшей воспаление кишки, может приводить к общему ослаблению инициируемых этой структурой нисходящих антиноцицептивных влияний. Тогда как избирательно возросшая в этих

условиях активация его клеток соматическими болевыми стимулами может способствовать неадекватному усилению болевой сигнализации от незатронутых патологией наружных тканей тела. В свою очередь, постколитное повышение общего уровня ноцицептивного возбуждения дорсального ядра шва, сохраняющего и усиливающего при этом свою селективность в отношении соматической боли, но снижающего способность дифференцировать от нее висцеральную, может приводить к возросшей и неадекватной действующему периферическому раздражителю стимуляции этим ядром боль-реактивных структур переднего мозга. Следствием этого может являться усиленная инициация последними недифференцированных по отношению к разным видам боли эмоционально-аффективных и когнитивных реакций. В своей совокупности отмеченные постколитные функциональные изменения в ядрах шва могут вносить существенный вклад в супраспинальные механизмы патогенеза поствоспалительной хронической абдоминальной боли и коморбидных ей соматических гипералгезий. Дальнейшее изучение лежащих в основе этих перестроек нейрохимических и молекулярных процессов будет способствовать разработке более эффективных методов лечения указанных патологий.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-25-00151, <https://rscf.ru/project/23-25-00151/>.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (О.А.Л.), сбор данных (Б.М.С., И.Б.С.), обработка данных (Б.М.С., И.Б.С., О.А.Л.), написание и редактирование манускрипта (Б.М.С., И.Б.С., О.А.Л.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гаус ОВ, Ливзан МА (2020) Фундаментальные основы формирования абдоминальной боли у пациентов с синдромом раздраженного кишечника. Эффект фармакоптер 16(15): 102–111. [Gaus OV, Livzan MA (2020) Fundamentals of abdominal pain formation in IBS patients. Effect pharmacoth 16(15): 102–111. (In Russ)]. <https://doi.org/10.33978/2307-3586-2020-16-15-102-111>
2. Агафонова НА, Яковенко ЭП, Иванов АН, Яковенко АВ (2018) Абдоминальная боль и висцеральная гиперчувствительность – две грани одной реальности для пациентов с СРК. Эффект фармакоптер 32: 26–33. [Agafonova NA, Yakovenko EP, Ivanov AN, Yakovenko AV (2018) Abdominal pain and visceral hypersensitivity like two sides of the same reality for IBS patients. Effect pharmacoth 32: 26–33. (In Russ)].
3. Bielefeldt K, Davis B, Binion DG. (2009) Pain and inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 15(5):778–788. <https://doi.org/10.1002/ibd.20848>
4. Vergnolle N (2022) Abdominal pain in irritable bowel syndrome. *Nat. Rev. Gastroenterol Hepatol.* 19:350. <https://doi.org/10.1038/s41575-022-00599-6>
5. Wils P, Caron B, D'Amico F, Danese S, Peyrin-Biroulet L. (2022) Abdominal Pain in Inflammatory Bowel Diseases: A Clinical Challenge. *J Clin Med* 11(15):4269. <https://doi.org/10.3390/jcm11154269>
6. Ceuleers H, Van Spaendonk H, Hanning N, Heirbaut J, Lambeir AM, Joossens J, Augustyns K, De Man JG, De Meester I, De Winter BY. (2016) Visceral hypersensitivity in inflammatory bowel diseases and irritable bowel syndrome: The role of proteases. *World J Gastroenterol* 22(47):10275–10286. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i47>
7. Farzaei MH, Bahramsoltani R, Abdollahi M, Rahimi R (2016) The Role of Visceral Hypersensitivity in Irritable Bowel Syndrome: Pharmacological Targets and Novel Treatments. *J Neurogastroenterol Motil* 22(4):558–574. <https://doi.org/10.5056/jnm16001>
8. Crowell MD (2004) Role of serotonin in the pathophysiology of the irritable bowel syndrome. *Br J Pharmacol* 141(8):1285–1293. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705762>
9. Gros M, Gros B, Mesonero JE, Latorre E (2021) Neurotransmitter Dysfunction in Irritable Bowel Syndrome: Emerging Approaches for Management. *J Clin Med* 10(15):3429. <https://doi.org/10.3390/jcm10153429>
10. Takahashi K, Khwaja IG, Schreyer JR, 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. <https://doi.org/10.1093/crocol/otab073>
11. Nakai A, Kumakura Y, Boivin M, Rosa P, Diksic M, D'Souza D, Kersey K (2003) Sex differences of brain serotonin synthesis in patients with irritable bowel syndrome using alpha-[11C]methyl-L-tryptophan, positron emission tomography and statistical parametric mapping. *Can J Gastroenterol* 17(3):191–196. <https://doi.org/10.1155/2003/572127>
12. O'Mahony S, Chua AS, Quigley EM, Clarke G, Shanahan F, Keeling PW, Dinan TG (2008) Evidence of an enhanced central 5HT response in irritable bowel syndrome and in the rat maternal separation model. *Neurogastroenterol Motil* 20(6):680–688. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2007.01065.x>
13. Ren TH, Wu J, Yew D, Ziea E, Lao L, Leung WK, Berman B, Hu PJ, Sung JJ (2007) Effects of neonatal maternal separation on neurochemical and sensory response to colonic distension in a rat model of irritable bowel syndrome. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 292(3):G849–G856. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00400.2006>

14. Zhang HA, Sang N, Ge X, Huang Q, Li XL, Sha J (2018) Nesfatin-1 in the dorsal raphe nucleus influences visceral sensitivity via 5-HT neurons in male maternally separated rats. *Sci Rep* 8:9334. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27592-x>
15. Goehler LE, Gaykema RP, Opitz N, Reddaway R, Badr N, Lyte M (2005) Activation in vagal afferents and central autonomic pathways: early responses to intestinal infection with *Campylobacter jejuni*. *Brain Behav. Immun* 19(4):334–344. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2004.09.002>
16. Lu Y, Westlund KN (2001) Effects of baclofen on colon inflammation-induced Fos, CGRP and SP expression in spinal cord and brainstem. *Brain Res* 889:118–130. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(00\)03124-3](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(00)03124-3)
17. Wan J, Ding Y, Tahir AH, Shah MK, Janyaro H, Li X, Zhong J, Vodyanov V, Ding M (2017) Electroacupuncture attenuates visceral hypersensitivity by inhibiting JAK2/STAT3 signaling pathway in the descending pain modulation system. *Front Neurosci* 11:644. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00644>
18. Sanoja R, Tortorici V, Fernandez C, Price TJ, Cervero F (2010) Role of RVM neurons in capsaicin-evoked visceral nociception and referred hyperalgesia. *Eur J Pain* 14(2):120.e1–e9. <https://doi.org/10.1016/j.ejpain.2009.04.006>
19. Chen MX, Chen Y, Fu R, Liu SY, Yang QQ, Shen TB (2016) Activation of 5-HT and NR2B contributes to visceral hypersensitivity in irritable bowel syndrome in rats. *Am J Transl Res* 8(12):5580–5590.
20. Martins I, Tavares I (2017) Reticular Formation and Pain: The Past and the Future. *Front Neuroanat* 11:51. <https://doi.org/10.3389/fnana.2017.00051>
21. Ossipov MH, Dussor GO, Porreca F (2010) Central modulation of pain. *J Clin Invest* 120(11):3779–3787. <https://doi.org/10.1172/JCI43766>
22. Wang Q-P, Nakai Y (1994) The dorsal raphe: An important nucleus in pain modulation. *Brain Res Bull* 34(6):575–585. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(94\)90143-0](https://doi.org/10.1016/0361-9230(94)90143-0)
23. Millan MJ (2002) Descending control of pain. *Prog Neurobiol* 66(6):355–474. [https://doi.org/10.1016/s0301-0082\(02\)00009-6](https://doi.org/10.1016/s0301-0082(02)00009-6)
24. Wei F, Gu M, Chu YX (2012) New tricks for an old slug: descending serotonergic system in pain. *Sheng Li Xue Bao* 64(5):520–530.
25. Mercer Lindsay N, Chen C, Gilam G, Mackey S, Scherrer G (2021) Brain circuits for pain and its treatment. *Sci Transl Med* 13(619):eabj7360. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abj7360>
26. Almeida TF, Roizenblatt S, Tufik S (2004) Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. *Brain Res* 1000(1–2):40–56. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2003.10.073>
27. Almeida A, Leite-Almeida H, Tavares I (2006) Medullary control of nociceptive transmission: Reciprocal dual communication with the spinal cord. *Drug Discov Today Dis Mech* 3(3):305–312. <https://doi.org/10.1016/j.ddmec.2006.09.001>
28. Chen Q, Heinricher MM (2022) Shifting the Balance: How Top-Down and Bottom-Up Input Modulate Pain via the Rostral Ventromedial Medulla. *Front Pain Res (Lausanne)* 3:932476. <https://doi.org/10.3389/fpain.2022.932476>
29. Cleary DR, Heinricher MM (2013) Adaptations in responsiveness of brainstem pain-modulating neurons in acute compared with chronic inflammation. *Pain* 154(6):845–855. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2013.02.019>
30. Porreca F, Ossipov MH, Gebhart GF (2002) Chronic pain and medullary descending facilitation. *Trends Neurosci* 25(6):319–325. [https://doi.org/10.1016/s0166-2236\(02\)02157-4](https://doi.org/10.1016/s0166-2236(02)02157-4)
31. Morris GP, Beck PL, Herridge MS, Depew WT, Szewczuk MR, Wallace JL (1989) Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology* 96(3):795–803.
32. Lyubashina OA, Sivachenko IB, Busygina II, Pantelev SS (2018) Colitis-induced alterations in response properties of visceral nociceptive neurons in the rat caudal medulla oblongata and their modulation by 5-HT3 receptor blockade. *Brain Res Bull* 142:183–196. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2018.07.013>
33. Lyubashina OA, Sivachenko IB, Busygina II (2021) Amygdalofugal Modulation of Visceral Nociceptive Transmission in the Rat Caudal Ventrolateral Medulla under Normal Conditions and Intestinal Inflammation. *J Evol Biochem Physiol* 57:5:1150–1162. <https://doi.org/10.1134/S0022093021050161>
34. Lyubashina OA, Sivachenko IB, Mikhalkin AA (2022) Impaired visceral pain-related functions of the mid-brain periaqueductal gray in rats with colitis. *Brain Res Bull* 182:12–25. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2022.02.002>
35. Paxinos G, Watson C (1998) The rat brain in stereotaxic coordinates. 4th ed London Acad Press.
36. Fields HL, Bry J, Hentall I, Zorman G (1983) The activity of neurons in the rostral medulla of the rat during withdrawal from noxious heat. *J Neurosci* 3(12):2545–2552. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.03-12-02545.1983>
37. Heinricher MM (2016) Pain Modulation and the Transition from Acute to Chronic Pain. *Adv Exp Med Biol* 904:105–115. https://doi.org/10.1007/978-94-017-7537-3_8
38. Heinricher MM, Morgan MM, Fields HL (1992) Direct and indirect actions of morphine on medullary neurons that modulate nociception. *Neuroscience* 48(3):533–543. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(92\)90400-v](https://doi.org/10.1016/0306-4522(92)90400-v)
39. Brink TS, Hellman KM, Lambert AM, Mason P (2006) Raphe magnus neurons help protect reactions to visceral pain from interruption by cutaneous pain. *J Neurophysiol* 96(6):3423–3432. <https://doi.org/10.1152/jn.00793.2006>
40. Brink TS, Mason P (2003) Raphe magnus neurons respond to noxious colorectal distension. *J Neurophysiol* 89(5):2506–2515. <https://doi.org/10.1152/jn.00825.2002>
41. Sikandar S, Dickenson AH (2011) Pregabalin modulation of spinal and brainstem visceral nociceptive processing. *Pain* 152(10):2312–2322. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2011.06.020>

42. *Chen T, Dong YX, Li YQ* (2003) Fos expression in serotonergic neurons in the rat brainstem following noxious stimuli: an immunohistochemical double-labelling study. *J Anat* 203(6):579–588.
<https://doi.org/10.1046/j.1469-7580.2003.00242.x>
43. *Dong YX, Han ZA, Xiong KH, Rao ZR* (1997) Fos expression in serotonergic midbrain neurons projecting to the paraventricular nucleus of hypothalamus after noxious stimulation of the stomach: a triple labeling study in the rat. *Neurosci Res* 27(2):155–160.
[https://doi.org/10.1016/s0168-0102\(96\)01143-1](https://doi.org/10.1016/s0168-0102(96)01143-1)
44. *Vilela FC, Vieira JS, Vitor-Vieira F, Kalil-Cutti B, da Silva JRT, Giusti-Paiva A, da Silva ML* (2021) Maternal separation increases pain sensitivity by reducing the activity of serotonergic neurons in the dorsal raphe nucleus and noradrenergic neurons in locus coeruleus. *Neurosci Lett* 748:135734.
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2021.135734>
45. *Montagne-Clavel J, Oliveras JL, Martin G* (1995) Single-unit recordings at dorsal raphe nucleus in the awake-anesthetized rat: spontaneous activity and responses to cutaneous innocuous and noxious stimulations. *Pain* 60(3):303–310.
[https://doi.org/10.1016/0304-3959\(94\)00129-3](https://doi.org/10.1016/0304-3959(94)00129-3)
46. *Shima K, Nakahama H, Yamamoto M* (1986) Firing properties of two types of nucleus raphe dorsalis neurons during the sleep-waking cycle and their responses to sensory stimuli. *Brain Res* 399(2):317–326.
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(86\)91522-2](https://doi.org/10.1016/0006-8993(86)91522-2)
47. *Lyubashina OA, Sivachenko IB, Sokolov AY* (2019) Differential responses of neurons in the rat caudal ventrolateral medulla to visceral and somatic noxious stimuli and their alterations in colitis. *Brain Res Bull* 152:299–310.
<https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2019.07.030>
48. *Ness TJ, Follett KA, Piper J, Dirks BA* (1998) Characterization of neurons in the area of the medullary lateral reticular nucleus responsive to noxious visceral and cutaneous stimuli. *Brain Res* 802(1–2):163–174.
[https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(98\)00608-8](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(98)00608-8)
49. *Pinto-Ribeiro F, Ansah OB, Almeida A, Pertovaara A* (2011) Response properties of nociceptive neurons in the caudal ventrolateral medulla (CVLM) in monoarthritic and healthy control rats: modulation of responses by the paraventricular nucleus of the hypothalamus (PVN). *Brain Res Bull* 86(1–2):82–90.
<https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2011.06.014>
50. *Luz LL, Fernandes EC, Sivado M, Kokai E, Szucs P, Saffronov BV* (2015) Monosynaptic convergence of somatic and visceral C-fiber afferents on projection and local circuit neurons in lamina I: a substrate for referred pain. *Pain* 156(10):2042–2051.
<https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000000267>
51. *Qin C, Farber JP, Linderoth B, Shahid A, Foreman RD* (2008) Neuromodulation of thoracic intraspinal visceroreceptive transmission by electrical stimulation of spinal dorsal column and somatic afferents in rats. *J Pain* 9(1):71–78.
<https://doi.org/10.1016/j.jpain.2007.08.007>
52. *Snowball RK, Semenenko FM, Lumb BM* (2000) Visceral inputs to neurons in the anterior hypothalamus including those that project to the periaqueductal gray: a functional anatomical and electrophysiological study. *Neuroscience* 99(2):351–361.
[https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(00\)00203-7](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(00)00203-7)
53. *Monconduit L, Bourgeois L, Bernard JF, Villanueva L* (2003) Convergence of cutaneous, muscular and visceral noxious inputs onto ventromedial thalamic neurons in the rat. *Pain* 103(1–2):83–91.
[https://doi.org/10.1016/s0304-3959\(02\)00418-9](https://doi.org/10.1016/s0304-3959(02)00418-9)
54. *Zhang HQ, Al-Chaer ED, Willis WD* (2002) Effect of tactile inputs on thalamic responses to noxious colorectal distension in rat. *J Neurophysiol* 88(3):1185–1196.
<https://doi.org/10.1152/jn.2002.88.3.1185>
55. *Zhang HQ, Rong PJ, Zhang SP, Al-Chaer ED, Willis WD* (2003) Noxious visceral inputs enhance cutaneous tactile response in rat thalamus. *Neurosci Lett* 336(2):109–112.
[https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(02\)01243-0](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(02)01243-0)
56. *Huang KW, Ochandarena NE, Philson AC, Hyun M, Birnbaum JE, Cicconet M, Sabatini BL* (2019) Molecular and anatomical organization of the dorsal raphe nucleus. *Elife* 8:e46464.
<https://doi.org/10.7554/eLife.46464>
57. *Nguyen E, Smith KM, Cramer N, Holland RA, Bleimeister IH, Flores-Felix K, Silberberg H, Keller A, Le Pichon CE, Ross SE* (2022) Medullary kappa-opioid receptor neurons inhibit pain and itch through a descending circuit. *Brain* 145(7):2586–2601.
<https://doi.org/10.1093/brain/awac189>
58. *Soiza-Reilly M, Commons KG* (2014) Unraveling the architecture of the dorsal raphe synaptic neuropil using high-resolution neuroanatomy. *Front Neural Circuits* 8:105.
<https://doi.org/10.3389/fncir.2014.00105>
59. *Zhao Q, Ito T, Soko C, Hori Y, Furuyama T, Hioki H, Konno K, Yamasaki M, Watanabe M, Ohtsuka S, Ono M, Kato N, Yamamoto R* (2022) Histochemical Characterization of the Dorsal Raphe-Periaqueductal Grey Dopamine Transporter Neurons Projecting to the Extended Amygdala. *eNeuro* 9(3):ENEURO.0121-22.2022.
<https://doi.org/10.1523/ENEURO.0121-22.2022>
60. *Gau R, Sévoz-Couche C, Hamon M, Bernard JF* (2013) Noxious stimulation excites serotonergic neurons: a comparison between the lateral paraventricular reticular and the raphe magnus nuclei. *Pain* 154(5):647–659.
<https://doi.org/10.1016/j.pain.2012.09.012>
61. *Gao K, Mason P* (2000) Serotonergic Raphe magnus cells that respond to noxious tail heat are not ON or OFF cells. *J Neurophysiol* 84(4):1719–1725.
<https://doi.org/10.1152/jn.2000.84.4.1719>
62. *Radhakrishnan R, Sluka KA* (2009) Increased glutamate and decreased glycine release in the rostral ventromedial medulla during induction of a pre-clinical model of chronic widespread muscle pain. *Neurosci Lett* 457(3):141–145.
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2009.03.086>
63. *Winkler CW, Hermes SM, Chavkin CI, Drake CT, Morrison SF, Aicher SA* (2006) Kappa opioid receptor (KOR) and GAD67 immunoreactivity are found in OFF and NEUTRAL cells in the rostral ventromedial medulla. *J Neurophysiol* 96(6):3465–3473.
<https://doi.org/10.1152/jn.00676.2006>
64. *Zhang Y, Zhao S, Rodriguez E, Takatoh J, Han BX, Zhou X, Wang F* (2015) Identifying local and descending inputs for primary sensory neurons. *J Clin Invest* 125(10):3782–

3794.
<https://doi.org/10.1172/JCI81156>
65. *Pedersen NP, Vaughan CW, Christie MJ* (2011) Opioid receptor modulation of GABAergic and serotonergic spinally projecting neurons of the rostral ventromedial medulla in mice. *J Neurophysiol* 106(2):731–740.
<https://doi.org/10.1152/jn.01062.2010>
66. *Yang B, Zhang LC, Zeng YM* (2003) [Microinjection of L-NAME into dorsal raphe nucleus inhibits nociceptive response in sigmoid pain model of rats. *Sheng Li Xue Bao* 55(5):577–582. (In Chinese)].
67. *Lyubashina O, Busygina I, Sivachenko I, Pantelev S* (2021) 5-HT_{1A} Receptor Activation by Buspirone Facilitates Post-Inflammatory Intestinal Hypersensitivity in a Rat Model. *FASEB J* 35(S1):02269.
<https://doi.org/10.1096/fasebj.2021.35.S1.02269>
68. *Deiteren A, van der Linden L, de Wit A, Ceuleers H, Buckinx R, Timmermans JP, Moreels TG, Pelckmans PA, De Man JG, De Winter BY* (2015) P2X₃ receptors mediate visceral hypersensitivity during acute chemically-induced colitis and in the post-inflammatory phase via different mechanisms of sensitization. *PLoS One* 10(4):e0123810.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123810>
69. *Eijkelkamp N, Kavelaars A, Elsenbruch S, Schedlowski M, Holtmann G, Heijnen CJ* (2007) Increased visceral sensitivity to capsaicin after DSS-induced colitis in mice: spinal cord c-Fos expression and behavior. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 293(4):G749–G757.
<https://doi.org/10.1152/ajpgi.00114.2007>
70. *Zhou Q, Price DD, Caudle RM, Verne GN* (2008) Visceral and somatic hypersensitivity in TNBS-induced colitis in rats. *Dig Dis Sci* 53(2):429–435.
<https://doi.org/10.1007/s10620-007-9881-6>
71. *Carlson JD, Maire JJ, Martenson ME, Heinricher MM* (2007) Sensitization of pain-modulating neurons in the rostral ventromedial medulla after peripheral nerve injury. *J Neurosci* 27(48):13222–13231.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3715-07.2007>
72. *Gonçalves L, Almeida A, Pertovaara A* (2007) Pronociceptive changes in response properties of rostroventromedial medullary neurons in a rat model of peripheral neuropathy. *Eur J Neurosci* 26(8):2188–2195.
<https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2007.05832.x>
73. *Kincaid W, Neubert MJ, Xu M, Kim CJ, Heinricher MM* (2006) Role for medullary pain facilitating neurons in secondary thermal hyperalgesia. *J Neurophysiol* 95(1):33–41.
<https://doi.org/10.1152/jn.00449.2005>
74. *Costa-Pereira JT, Serrão P, Martins I, Tavares I* (2020) Serotonergic pain modulation from the rostral ventromedial medulla (RVM) in chemotherapy-induced neuropathy: The role of spinal 5-HT₃ receptors. *Eur J Neurosci* 51(8):1756–1769.
<https://doi.org/10.1111/ejn.14614>
75. *Wei F, Dubner R, Zou S, Ren K, Bai G, Wei D, Guo W* (2010) Molecular depletion of descending serotonin unmasks its novel facilitatory role in the development of persistent pain. *J Neurosci* 30:8624–8636.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5389-09.2010>
76. *Zhang L, Hammond DL* (2010) Cellular basis for opioid potentiation in the rostral ventromedial medulla of rats with persistent inflammatory nociception. *Pain* 149(1):107–116.
<https://doi.org/10.1016/j.pain.2010.01.017>
77. *Aby F, Lorenzo LE, Grivet Z, Bouali-Benazzouz R, Martin H, Valerio S, Whitestone S, Isabel D, Idi W, Bouchatta O, De Deurwaerdere P, Godin AG, Herry C, Fioramonti X, Landry M, De Koninck Y, Fossat P* (2022) Switch of serotonergic descending inhibition into facilitation by a spinal chloride imbalance in neuropathic pain. *Sci Adv* 8(30):eabo0689.
<https://doi.org/10.1126/sciadv.abo0689>
78. *Cai Y-Q, Wang W, Hou Y-Y, Pan ZZ* (2014) Optogenetic Activation of Brainstem Serotonergic Neurons Induces Persistent Pain Sensitization. *Molecular Pain* 10.
<https://doi.org/10.1186/1744-8069-10-70>
79. *Suzuki R, Rygh LJ, Dickenson AH* (2004) Bad news from the brain: descending 5-HT pathways that control spinal pain processing. *Trends Pharmacol Sci* 25(12):613–617.
<https://doi.org/10.1016/j.tips.2004.10.002>
80. *Bagdy E, Kiraly I, Harsing LG* (2000) Reciprocal Innervation between Serotonergic and GABAergic Neurons in Raphe Nuclei of the Rat. *Neurochem* 25:1465–1473.
<https://doi.org/10.1023/A:1007672008297>
81. *Bliercrow P, Piñeyro G, el Mansari M, Bergeron R, de Montigny C* (1998) Role of somatodendritic 5-HT autoreceptors in modulating 5-HT neurotransmission. *Ann N Y Acad Sci* 861:204–216.
<https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1998.tb10192.x>
82. *Kirby LG, Pernar L, Valentino RJ, Beck SG* (2003) Distinguishing characteristics of serotonin and non-serotonin-containing cells in the dorsal raphe nucleus: electrophysiological and immunohistochemical studies. *Neuroscience* 116(3):669–683.
[https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(02\)00584-5](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(02)00584-5)
83. *Lemos JC, Pan YZ, Ma X, Lamy C, Akanwa AC, Beck SG* (2006) Selective 5-HT receptor inhibition of glutamatergic and GABAergic synaptic activity in the rat dorsal and median raphe. *Eur J Neurosci* 24(12):3415–3430.
<https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.05222.x>
84. *Ganley RP, de Sousa MM, Werder K, Öztürk T, Mendes R, Ranucci M, Wildner H, Zeilhofer HU* (2023) Targeted anatomical and functional identification of antinociceptive and pronociceptive serotonergic neurons that project to the spinal dorsal horn. *Elife* 12:e78689.
<https://doi.org/10.7554/eLife.78689>
85. *Inyushkin AN, Merkulova NA, Orlova AO, Inyushkina EM* (2010) Local GABAergic modulation of the activity of serotonergic neurons in the nucleus raphe magnus. *Neurosci Behav Physiol* 40(8):885–893.
<https://doi.org/10.1007/s11055-010-9337-x>
86. *Li MH, Suchland KL, Ingram SL* (2015) GABAergic transmission and enhanced modulation by opioids and endocannabinoids in adult rat rostral ventromedial medulla. *J Physiol* 593(1):217–230.
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2014.275701>
87. *Abrams JK, Johnson PL, Hollis JH, Lowry CA* (2004) Anatomic and functional topography of the dorsal raphe nucleus. *Ann N Y Acad Sci* 1018:46–57.
<https://doi.org/10.1196/annals.1296.005>
88. *Wu JC, Ziea ET, Lao L, Lam EF, Chan CS, Liang AY, Chu SL, Yew DT, Berman BM, Sung JJ* (2010) Effect of electroacupuncture on visceral hyperalgesia, serotonin

- and fos expression in an animal model of irritable bowel syndrome. *J Neurogastroenterol Motil* 16(3):306–314. <https://doi.org/10.5056/jnm.2010.16.3.306>
89. *Bi Z, Zhang S, Meng Y, Feng Y, Wang Y, Wang E, Pan X, Zhu R, Fan H, Pang S, Zhu L, Yuan J* (2021) Female serotonin transporter-knockout rat: A potential model of irritable bowel syndrome. *FASEB J* 35(7):e21701. <https://doi.org/10.1096/fj.202000007RRR>
90. *Andersen E, Dafny N* (1983) An ascending serotonergic pain modulation pathway from the dorsal raphe nucleus to the parafascicularis nucleus of the thalamus. *Brain Res* 269(1):57–67. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(83\)90962-9](https://doi.org/10.1016/0006-8993(83)90962-9)
91. *Dugué GP, Lörincz ML, Lottem E, Audero E, Matias S, Correia PA, Léna C, Mainen ZF* (2014) Optogenetic recruitment of dorsal raphe serotonergic neurons acutely decreases mechanosensory responsivity in behaving mice. *PLoS One* 9(8):e105941. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105941>
92. *Marinelli S, Schnell SA, Hack SP, Christie MJ, Wessendorf MW, Vaughan CW* (2004) Serotonergic and nonserotonergic dorsal raphe neurons are pharmacologically and electrophysiologically heterogeneous. *J Neurophysiol* 92(6):3532–3537. <https://doi.org/10.1152/jn.00437.2004>
93. *Xie L, Wu H, Chen Q, Xu F, Li H, Xu Q, Jiao C, Sun L, Ullah R, Chen X* (2022) Divergent modulation of pain and anxiety by GABAergic neurons in the ventrolateral periaqueductal gray and dorsal raphe. *Neuropsychopharmacology*. <https://doi.org/10.1038/s41386-022-01520-0>
94. *Liu X, He J, Jiang W, Wen S, Xiao Z* (2023) The roles of periaqueductal gray and dorsal raphe nucleus dopaminergic systems in the mechanisms of thermal hypersensitivity and depression in mice. *J Pain* S1526–5900(23):00037–00038. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2023.02.004>
95. *Li C, Sugam JA, Lowery-Gionta EG, McElligott ZA, McCall NM, Lopez AJ, McKlveen JM, Pleil KE, Kash TL* (2016) Mu Opioid Receptor Modulation of Dopamine Neurons in the Periaqueductal Gray/Dorsal Raphe: A Role in Regulation of Pain. *Neuropsychopharmacology* 41(8):2122–2132. <https://doi.org/10.1038/npp.2016.12>
96. *Yu W, Pati D, Pina MM, Schmidt KT, Boyt KM, Hunker AC, Zweifel LS, McElligott ZA, Kash TL* (2021) Periaqueductal gray/dorsal raphe dopamine neurons contribute to sex differences in pain-related behaviors. *Neuron* 109(8):1365–1380.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2021.03.001>

POSTCOLITIS ALTERATIONS IN NOCICEPTIVE PROPERTIES OF NEURONS IN THE RAT RAPHE MAGNUS AND DORSAL RAPHE NUCLEI

B. M. Sushkevich^a, I. B. Sivachenko^a, and O. A. Lyubashina^{a,#}

^a*Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia*

[#]*e-mail: lyubashinaoa@infran.ru*

Dysfunction of the brain serotonergic system is thought to play a leading role in the pathogenesis of chronic abdominal pain and comorbid somatic hyperalgesia, which disturb a significant proportion of patients with digestive tract diseases, even in remission. However, the specific changes in the serotonergic structures nociceptive properties that can be initiated by organic pathology and persist after its resolution remain unclear. The aim of our neurophysiological study on anesthetized rats – healthy and recovered from colitis – was to identify the alterations in the raphe magnus (RMg) and dorsal raphe (DR) nuclei neuronal responses to visceral (colorectal distension) and somatic (squeezing of the tail) noxious stimulations that persist after resolution of intestinal inflammation. It has been shown that both nuclei contain different groups of nociceptive neurons: 1) responding with activation only to colorectal distension (visceral); 2) excited only by tail squeezing (somatic); 3) reacting with excitation to the both irritations (general); 4) responding with discharge inhibition to any of the stimulations (inhibited). Compared with healthy animals, in RMg of colitis-exposed rats the number of the inhibited cells was increased and the total proportion of excited nociceptive neurons was reduced. Distension of the inflammation-undergone intestine caused enhanced RMg neuronal inhibition, whereas squeezing of the pathology-unaffected tail led to increased excitation of the RMg selective somatic and general nociceptive cells. In turn, in the DR of postcolitis rats the inhibited neuron proportion was reduced, while the increased population of excited neurons included fewer visceral and more somatic selective cells. This was accompanied by an increase in the selective reactions of the latter to somatic pain stimuli and by an increase in non-selective DR neuron excitation by visceral and somatic pain signals. The identified neuronal alterations can contribute to the postcolitis impairment of the studied raphe nuclei functions in the endogenous control of visceral and somatic pain sensitivity.

Keywords: nucleus raphe magnus, dorsal raphe nucleus, neuronal activity, abdominal pain, somatic pain, post-colitis period